

08.10.2004

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2004年 2月26日
Date of Application:

出願番号 特願2004-051811
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP2004-051811]

| | |
|-------------------|-----|
| REC'D 02 DEC 2004 | |
| WIPO | PCT |

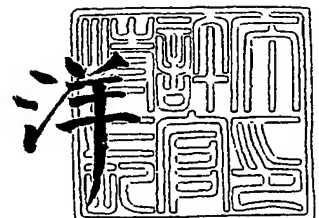
出願人 富士写真フイルム株式会社
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年11月19日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



出証番号 出証特2004-3105305

【書類名】 特許願
【整理番号】 0310040
【提出日】 平成16年 2月26日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 A61M 1/34
C12N 15/10
B01D 15/00

【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市扇町 2 丁目 1 2 番 1 号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 繁定 啓司

【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市扇町 2 丁目 1 2 番 1 号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 藤原 盛男

【発明者】
【住所又は居所】 埼玉県朝霞市泉水 3 丁目 1 1 番 4 6 号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 森 寿弘

【特許出願人】
【識別番号】 000005201
【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】
【識別番号】 100064414
【弁理士】
【氏名又は名称】 磯野 道造
【電話番号】 03-5211-2488

【先の出願に基づく優先権主張】
【出願番号】 特願2003-361019
【出願日】 平成15年10月21日

【先の出願に基づく優先権主張】
【出願番号】 特願2003-360550
【出願日】 平成15年10月21日

【先の出願に基づく優先権主張】
【出願番号】 特願2003-361183
【出願日】 平成15年10月21日

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 015392
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 0016369

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジであって、

前記核酸吸着性多孔性膜は、その周縁部が前記筒状本体の筒部を形成する成形材料により挟持され、

前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である前記底部を形成する底部材に前記核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成型型のキャビティ内にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持したことを特徴とする核酸分離精製カートリッジ。

【請求項 2】

有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジの製造方法であって、

前記筒状本体の底部を有して前記筒状本体の一部を形成する底部材の該底部に、前記核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、前記底部材および前記核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、

前記核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、前記コアピンの周囲に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で前記核酸吸着性多孔性膜を保持するとともに射出成型型を閉じる工程と、

前記キャビティ内に成形材料を射出し、前記筒状本体の筒部を成形すると同時に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と前記底部とで挟持する工程と、

前記射出成型型から成形体を取り出す工程と、
を有することを特徴とする核酸分離精製カートリッジの製造方法。

【請求項 3】

第 1 開口と第 2 開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、前記第 1 開口側から前記第 2 開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、前記核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジであって、

前記筒状体は、前記核酸吸着性多孔性膜を支持する底部を有する筒状本体と、前記底部に形成された底部開口と前記第 2 開口とを連通する排出部とを有し、

前記底部は、底面と、前記底面に形成された複数の突起とを有し、

前記複数の突起は、その頂部の少なくとも一部で前記核酸吸着性多孔性膜を支持し、かつ、使用時において、前記核酸吸着性多孔性膜が前記底部開口に近付くほど前記排出部の方へ変位するように形成されていることを特徴とする核酸分離精製カートリッジ。

【請求項 4】

第 1 開口と第 2 開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、前記第 1 開口側から前記第 2 開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、前記核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジであって、

前記筒状体は、前記核酸吸着性多孔性膜を支持する底部を有する筒状本体と、前記底部に形成された底部開口と前記第 2 開口とを連通する排出部とを有し、

前記排出部の前記第 2 開口を形成する部分の肉厚は、0.2 mm 以上であることを特徴とする核酸分離精製カートリッジ。

【書類名】明細書

【発明の名称】核酸分離精製カートリッジ

【技術分野】

【0001】

本発明は、核酸を分離するための核酸分離精製カートリッジに関する。より詳細には、第1開口と第2開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、第1開口側から第2開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジ、および、インサート射出成形により製造される核酸分離精製カートリッジおよびその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

核酸は、様々な分野において種々の形態で使用されているが、多くの場合、核酸は極めて少量でしか入手できず、単離および精製操作が煩雑で時間を要する。

【0003】

この核酸を簡便かつ効率的に分離精製する方法として、少なくとも2つの開口を有する容器内に、表面に水酸基を有する有機高分子から成る固相を収容した核酸分離精製ユニットを用いた方法が、特許文献1に記載されている（図19参照）。この方法は、まず、核酸を含む試料溶液中に、前記核酸分離精製ユニットの一の開口Zを入没させる。次いで、他の一の開口Yに接続された圧力差発生装置を用いて、前記核酸分離精製ユニットの内部を減圧状態にして、試料溶液を容器内に吸入する。この操作により、試料溶液が固相と接触して試料溶液中に存在する核酸が固相に吸着する。続いて、圧力差発生装置を用いてユニットの容器内を加圧して、吸引した試料溶液を排出する。

【0004】

次に、前記と同様の減圧-加圧操作で洗浄液を容器内に吸入した後、容器から排出して容器内を洗浄する。この洗浄液は容器内に残留する試料溶液を洗い流すと共に、核酸と一緒に固相に吸着した試料溶液中の不純物も洗い流す機能を有する。更に、固相に吸着した核酸を離脱させるための回収液を、上記と同様の減圧-加圧操作によって容器内に吸入し、容器から排出する。この排出された回収液には目的とする核酸が含まれているので、これを回収することにより分離精製が完了する。

【0005】

ここで、核酸を吸着させる固相としては、核酸吸着性多孔性膜が一般的に用いられている。

また、このような核酸分離精製ユニット（核酸分離精製カートリッジ）の構造としては、当該ユニットの容器を構成する2つの筒状の部品により核酸吸着性多孔性膜を挟みつけて保持する構造が一般的である。そして、この2つの筒状の部品の固着方法としては、超音波溶着、レーザーによる熱溶着、接着剤、ネジなどによって固着する方法が用いられている。

【特許文献1】特開2003-128691号公報（段落0032～0050、図1）

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、容器を構成する2つの筒状の部品を射出成形により製造し、一方の筒状の部品の内部に核酸吸着性多孔性膜を挿入し、組み立て加工機で2つの筒状の部品を組み合わせる核酸分離精製ユニットを製造する場合は、2つの筒状の部品を組み合わせただ後に、超音波溶着やレーザーによる熱溶着等を行って筒状の部品同士を固着する必要がある。そのため、2つの筒状の部品を固着するための専用設備（例えば超音波溶着機等）が必要となる。

【0007】

また、核酸分離精製ユニットは、試料溶液を加圧して核酸吸着性多孔性膜を通過させる

ことから、核酸吸着性多孔性膜の側面（容器と核酸吸着性多孔性膜の接触部）からの試料溶液の回り込みを防止するために、容器を構成する2つの部品によって核酸吸着性多孔性膜の周縁部をしっかりと押さえつけて挟持する必要がある。

しかしながら、多数個の筒状の部品を同時に押し付けて核酸吸着性多孔性膜を挟持させて多数個の核酸分離精製カートリッジを同時に製造すると、製造誤差により部品の高さにばらつきがあることから、核酸吸着性多孔性膜を押し潰す力に差が生じ、押し潰す力が足りない場合にはシール不良となる。一方、押し潰す力が強すぎる場合には核酸吸着性多孔性膜が破れてしまうおそれがある。そのため、この方法では、同時に多数個の核酸分離精製カートリッジを製造することが困難と考えられる。

【0008】

また、前記の核酸分離精製カートリッジでは、洗浄液にて洗い流す際、出来るだけ容器内に洗浄液が残留しないのが望ましい。洗浄液が残留した状態で、回収液にて核酸を回収すると、排出された回収液に洗浄液が混入し、この混入した洗浄液の濃度によっては、次工程、例えば、PCR (Polymerase Chain Reaction) 等において、悪影響を及ぼすおそれがある。

【0009】

さらに、前記の核酸分離精製カートリッジでは、核酸分離精製カートリッジ内の溶液等を排出し終わった後も加圧装置により継続して空気を圧送することとなる。このとき、核酸を分離精製するための膜は多孔性であるためにこの溶液等が膜を通過した際に細かい泡を生じることがある。かかる現象は粘性の高い試料溶液において特に生じ易い。そして、生じた細かい泡は加圧された空気によって、溶液等を排出するための他の開口まで運ばれ、排出部402の開口近傍に溜まる（図20参照）。さらに、この開口から吹き出したエアは、当該カートリッジの下部に配置されている廃液容器400の内部で巻き上がり、巻き上がったエアによってこの泡が排出部の外壁面にまで回り込み、付着する。

【0010】

付着した泡は、その後の回収液による回収工程で精製された核酸と共に回収されてしまう。このようにして回収された泡は未洗浄の溶液であるので、回収液によって回収された核酸に対しては不純物となる。すなわち、核酸の精製率を悪化させるという問題や、後工程において回収された核酸を使用して実験・研究する際に、酵素反応を阻害する虞がある。

【0011】

本発明は、これらの問題を解決するためになされたものであり、容器を固着するための専用設備が不要であり、多数個を同時に製造することができる核酸分離精製カートリッジおよびその製造方法を提供することを第一の課題とする。

【0012】

また、本発明は、第1開口と第2開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、第1開口側から第2開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジを用いて核酸の分離精製を行う際に、洗浄工程において、洗浄液が容器内に残留し難い（洗浄液が排出され易い）核酸分離精製カートリッジを提供することを第二の課題とする。

【0013】

さらに、本発明は、排出部の外壁面に溶液等が付着しない構成とした核酸分離精製カートリッジを提供することを第三の課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0014】

請求項1に記載の本発明に係る核酸分離精製カートリッジは、有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジであって、前記核酸吸着性多孔性膜は、その周縁部が前記筒状本体の筒部を形成する成形材料により挟持され、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である前記底部を形成する底部材に前記核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成型型のキャビティ内

にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に前記核酸吸着性多孔性膜を挟持したことを特徴とする。

【0015】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジによれば、核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である底部を形成する底部材に核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成形型のキャビティ内にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に核酸吸着性多孔性膜を挟持することから、従来必要とされていた超音波溶着機等の固着のための専用設備が不要となり、射出成形装置のみで核酸分離精製カートリッジを製造することが可能となる。また、部品の製造誤差による核酸吸着性多孔性膜の押圧力の差によって核酸吸着性多孔性膜が破れたりシール不足となったりすることがない。

【0016】

また、前記底部材は、前記底部の開口に連通する筒状の排出部（ノズル）をさらに備えていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜を通過した液体が飛び散ることなく排出部の先端から流下する。

【0017】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、前記筒状本体の筒部を形成する成形材料の射出圧力により押し潰されて挟持されていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が潰されることとなり、当該周縁部に試料溶液や洗浄液が残留することがなく、また、核酸吸着性多孔性膜の側面へ試料溶液が回り込むことがない。

【0018】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、内部の空隙がなくなるまで押し潰されていることが好ましい。これにより、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0019】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰されていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が押し潰されてなくなることから、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0020】

また、前記核酸分離精製カートリッジが複数個つながった状態で同時に成形されてなる核酸分離精製カートリッジ群においては、前記射出成形型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数個のキャビティは互いに連通していることが好ましい。

【0021】

かかる核酸分離精製カートリッジ群によれば、前記射出成形型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数個のキャビティは互いに連通していることから、同じ射出圧力で射出される樹脂がそれぞれのキャビティに充填されることとなるため、核酸吸着性多孔性膜を押圧する力が等しくなり、シール不足や破れが発生することなく、同時に多数の核酸分離精製カートリッジを、或いは、多数の核酸分離精製カートリッジが連結された核酸分離精製カートリッジ群を、製造することができる。

。

【0022】

ここで、「つながった状態」とは、カートリッジ同士が直接つながった状態であってもよいし、ランナーによってつながっている状態でもよい。これにより、複数の核酸分離精

製カートリッジを同時に製造することが可能となるため、製造効率を飛躍的に向上させることができる。

【0023】

請求項2に記載の本発明に係る核酸分離精製カートリッジの製造方法は、有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジの製造方法であって、前記筒状本体の底部を有して前記筒状本体の一部を形成する底部材の底部に、前記核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、前記底部材および前記核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、前記核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、前記コアピンの周囲に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で前記核酸吸着性多孔性膜を保持する工程と、前記射出成型型を閉じる工程と、前記キャビティ内に成形材料を射出し、前記筒状本体の筒部を成形すると同時に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と前記底部とで挟持する工程と、前記射出成型型から成形体を取り出す工程と、を有することを特徴とする。

【0024】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジの製造方法によれば、筒状本体の底部を有して筒状本体の一部を形成する底部材の底部に、核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、底部材および核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、コアピンの周囲に核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で核酸吸着性多孔性膜を保持する工程と、射出成型型を閉じる工程と、キャビティ内に成形材料を射出し、筒状本体の筒部を成形すると同時に核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と底部とで挟持する工程と、射出成型型から成形体を取り出す工程と、を有することから、超音波溶着機等を用いて筒状の部品同士を固着する工程が不要となり、射出成形装置のみで核酸分離精製カートリッジを製造することが可能となる。また、部品の製造誤差（寸法誤差）による核酸吸着性多孔性膜の押圧力の差によって核酸吸着性多孔性膜が破れたりシール不足となったりすることがない。

【0025】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンは、前記核酸吸着性多孔性膜を、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰して保持することが好ましい。これにより、成形材料の注入圧によって核酸吸着性多孔性膜がずれたりしわがよったりすることがない。

【0026】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの先端部は、その周縁部から中心部に向かって円錐形状に形成されていることが好ましい。これにより、コアピンは自律的に調心される。

【0027】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの周囲にはみ出した前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を、前記キャビティ内に射出された成形材料の射出圧力により、内部の空隙がなくなるまで押し潰すことが好ましい。これにより、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0028】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの周囲にはみ出した前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を、前記キャビティ内に射出された成形材料の射出圧力により、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰すことが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が押し潰されてなくなることから、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0029】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法により多数の核酸分離精製カートリッジを同時に製造する方法においては、前記射出成型型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上

でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数のキャビティは互いに連通していることが好ましい。

【0030】

このような、多数の核酸分離精製カートリッジを同時に製造する方法によれば、射出成形型はキャビティを複数個備えており、複数のキャビティ内には底部材に核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに複数のキャビティは互いに連通していることから、同じ射出圧力で射出される樹脂がそれぞれのキャビティに充填されることとなるため、核酸吸着性多孔性膜を押圧する力が等しくなり、シール不足や破れが発生することなく、同時に多数の核酸分離精製カートリッジを、或いは、多数の核酸分離精製カートリッジが連結された核酸分離精製カートリッジ群を、製造することができる。

【0031】

請求項3に記載の本発明に係る核酸分離精製カートリッジは、第1開口と第2開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、前記第1開口側から前記第2開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、前記核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジであって、前記筒状体は、前記核酸吸着性多孔性膜を支持する底部を有する筒状本体と、前記底部に形成された底部開口と前記第2開口とを連通する排出部とを有し、前記底部は、底面と、前記底面に形成された複数の突起とを有し、前記複数の突起は、その頂部の少なくとも一部で前記核酸吸着性多孔性膜を支持し、かつ、使用時において、前記核酸吸着性多孔性膜が前記底部開口に近づくほど前記排出部の方へ変位するように形成されていることを特徴とする。

【0032】

本発明の核酸分離精製カートリッジによれば、底面に設けられた複数の突起が、その頂部の少なくとも一部で前記核酸吸着性多孔性膜を支持し、かつ、使用時において、前記核酸吸着性多孔性膜が前記底部開口に近づくほど前記排出部の方へ変位するように形成されているため、洗浄工程において、洗浄液を加圧ガスにより通流させる際、核酸吸着性多孔性膜が突起に沿って、排出部側に向かって凸状に変形する。これにより、洗浄液が筒状本体の底部に残留することなく、速やかに排出部から排出される。

【0033】

また、前記複数の突起は、好ましくは前記底部開口から放射状に延びる複数のリブである。この場合、前記リブは3本以上であることが好ましい。なお、前記筒状体の径方向に対するそれぞれの前記リブの傾斜角度は、好ましくは 3° 以上、より好ましくは 5° 以上である。

【0034】

また、前記底面は、前記底部開口に近づくほど前記排出部の方へ変位する傾斜を有することが好ましい。これにより、洗浄液がより速やかに排出される。また、前記筒状体の径方向に対する前記底面の傾斜角度は、好ましくは 10° 以上、より好ましくは 15° 以上、最も好ましくは 20° 以上である。

【0035】

また、前記リブは、頂部が円弧状に形成されているのが好ましい。これにより、リブの頂部と核酸吸着性多孔性膜との間に洗浄液が滞留し難くなるので、洗浄液がより速やかに排出される。また、前記核酸分離精製カートリッジは、内面に存在する角部および隅部が円弧状に形成されているのが好ましい。これにより、内面に存在する角部および隅部に、洗浄液が滞留し難くなるので、洗浄液がより速やかに排出される。なお、リブの頂部の曲率半径はリブ幅に対して $1/4$ 以上が好ましく、より好ましくは $1/3$ 以上、最も好ましくは $1/2$ 以上である。また、角部の曲率半径は 0.1 mm 以上が好ましく、より好ましくは 0.2 mm 以上、最も好ましくは 0.3 mm 以上である。また、隅部の曲率半径は 0.1 mm 以上が好ましく、より好ましくは 0.15 mm 以上、最も好ましくは 0.2 mm 以上である。

【0036】

また、前記筒状体の軸と前記筒状体の内周面とがなす角度は、好ましくは 10° 以下、より好ましくは 5° 以下である。これにより、洗浄液が筒状体の内周面を伝って流れ易くなるので、洗浄液がより速やかに排出される。

【0037】

また、前記核酸分離精製カートリッジの内壁面には、前記洗浄液の液滴の接触角が 80° 以下または 90° 以上となるような材質、あるいはそのような接触角となるように表面処理が行われた材質を用いるのが好ましい。接触角が 80° 以下の場合、核酸分離精製カートリッジの内壁面に対する洗浄液の濡れ性が向上し、洗浄液が液滴として残留し難くなるため、洗浄液がより速やかに排出される。なお、濡れ性を更に向上させるためには、接触角は 60° 以下がより好ましく、 50° 以下が最も好ましい。

また、接触角が 90° 以上の場合、核酸分離精製カートリッジの内壁面に洗浄液が液滴として残留しても、その液滴は表面張力により略球状となるため、加圧ガスにより除去し易くなる。これにより、洗浄液がより速やかに排出される。

【0038】

また、前記核酸吸着性多孔性膜は、その周縁部が潰れた状態で保持されるのが好ましい。核酸吸着性多孔性膜は孔部を有するため、その周縁部が潰れた状態で保持されると、孔部が塞がるようにして潰れるため、その部分からは液体が流れなくなる。これにより、核酸吸着性多孔性膜を通るべき液体（試料溶液等）が、核酸吸着性多孔性膜の側部に回り込む不具合を防ぐことができる。

【0039】

請求項4に記載の本発明に係る核酸分離精製カートリッジは、第1開口と第2開口を有する筒状体の内部に核酸吸着性多孔性膜を備え、前記第1開口側から前記第2開口側へ向けて核酸を含む試料溶液を加圧ガスにより通流させることで、前記核酸吸着性多孔性膜に核酸を吸着させ、分離精製する核酸分離精製カートリッジであって、前記筒状体は、前記核酸吸着性多孔性膜を支持する底部を有する筒状本体と、前記底部に形成された底部開口と前記第2開口とを連通する排出部とを有し、前記排出部の前記第2開口を形成する部分の肉厚は、 0.2 mm 以上であることを特徴とする。

なお、前記第2開口を形成する部分の肉厚は、 0.5 mm 以上であることがさらに好ましい。

【0040】

排出部の第2開口における肉厚がこのような厚みを有することにより、泡がエアで巻き上げられた場合であっても、排出部の外壁面まで泡が回り込むことがなく、外壁面への泡の付着を防止することができる核酸分離精製カートリッジを具現することができる。特に、排出部が筒状に形成されている場合に、この排出部の外壁面に泡が回り込むことを防止することができる。

【0041】

前記した核酸分離精製カートリッジにおいては、前記第2開口の開口径が 1.0 mm 以上であり、かつ、前記第2開口を形成する部分の肉厚が 0.2 mm 以上であり、さらに、前記第2開口を形成する部分の外径が 1.4 mm 以上であることが好ましい。

なお、前記第2開口を形成する部分の外径は、 2.0 mm 以上であることがより好ましい。

【0042】

このように第2開口の開口径と、第2開口を形成する部分の肉厚と、第2開口を形成する部分の外径とを規定したことにより、良好な排出性、排出部の外壁面への泡の付着防止性を具備した核酸分離精製カートリッジを具現することができる。

【0043】

また、前記した核酸分離精製カートリッジにおいては、前記排出部の端面と、前記排出部の外壁面とのなす角度を、 105° 以下とするのが好ましい。なお、排出部の端面と外壁面とのなす角度を 100° 以下とするのがより好ましく、 95° 以下とするのがさらに好ましい。

また、排出部の端面の形状を第2開口へ近づくにつれ開口径が広がる漏斗形状としてもよい。この場合、前記排出部の端面と外壁面のなす角度を、 30° 以上とするのがよい。

【0044】

排出部の端面と、排出部の外壁面とのなす角度をこのように形成したので、排出部の外壁面に試料溶液の泡が回り込み難い核酸分離精製カートリッジを具現することができる。また、外壁面に泡が付着した場合であっても、その泡は排出部の第2開口近傍に戻り易く、洗浄液によってこれを取り除くことが容易な核酸分離精製カートリッジを具現することができる。結果、回収液に未処理の試料溶液の混入を防止することができる核酸分離精製カートリッジを具現することができる。また、排出部の端面の形状を第2開口へ近づくにつれ開口径が広がる漏斗形状とすると、発生した泡が当該外壁面にまで回り込み難くなる。さらに、排出部の端面と外壁面とのなす角度を、 30° 以上に形成してもよい、このようにすると泡の回り込みを防止することができる。

【0045】

さらに、前記した核酸分離精製カートリッジにおいては端面および外壁面の樹脂親水性を高めるのが好ましい。すなわち、核酸分離精製カートリッジを構成する材質を濡れ易いものとするのが好ましい。

【0046】

ここで、排出部の端面のみを考えた場合、撥水性を高めると溶液と端面との濡れ性が悪くなって溶液や泡をはじき易くなるので端面への泡の付着を防ぐことができ、また、端面から外壁面へ泡を持ち上げる表面エネルギーも大きくなる結果、泡は外壁面に付着し難くなる。しかし、前記寸法以下でテストした際に、外壁面へ回りこんだ泡は、外壁面の撥水性により表面エネルギーが強く、重力で落下しなかった。また、洗浄液も撥水してしまい、泡を引き込むことができなかった。したがって、核酸分離精製カートリッジの端面および外壁面の樹脂親水性を高めることが好ましい。

なお、本発明において「濡れ性」とは溶液と対象物（端面や外壁面）とのなじみ易さをいい、溶液と対象物との接触角で規定される。実験から前記した寸法・形状において端面に泡を保持することができ、かつ、洗浄工程で不純物を洗い落とすための溶液（洗浄液）と対象物との接触角としては、 100° 以下がよく、好ましくは 95° 以下、より好ましくは 90° 以下である。

【0047】

また、前記した核酸分離精製カートリッジにおいては、前記排出部の端面に、泡を誘導するための爪部材を設けるのがよい。この爪部材を1本から複数本設けるのが望ましい。また、この爪部材の内側の位置を排出部の内壁面と一致するように設けるのが特に望ましい。なお、この爪部材は棒状に形成するのがさらに好ましい。

【0048】

このように構成することで、第2開口に到達した泡は、内壁面に延設された爪部材を伝ってその先端部分、すなわち、第2開口より下の位置で凝集する。その結果、凝集した泡は廃液容器に落ち易くなるので、泡が外壁面に付着し難くなる。また、エアによって泡が吹き上げられた場合であっても、これが外壁面まで到達することはない。

【発明の効果】

【0049】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジおよびその製造方法によれば、容器を固着するための専用設備が不要となり、また、多数個を同時に製造することが容易となる。したがって、製造設備費を大幅に削減することができるとともに、製造効率を飛躍的に増大させることができる。

【0050】

また、本発明に係る核酸分離精製カートリッジによれば、洗浄工程において、洗浄液が核酸分離精製カートリッジの内部に残留せずに、速やかに排出されるので、排出された回収液への洗浄液の混入を抑えることができる。これにより、次工程において、洗浄液に起因する不具合を未然に防ぐことができる。

【0051】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジによれば、試料溶液の泡が、核酸分離精製カートリッジの排出部の外壁面に付着することを防止することができる。さらに、未処理の試料溶液の泡の混入防止を図ることができるので、核酸の精製率を向上することが可能である。また、回収した核酸を使用した実験や研究において、酵素による反応が阻害されるなどの問題の発生を未然に防ぐことが可能である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0052】

〔第1実施形態〕

本発明の核酸分離精製カートリッジに係る第1実施形態について、適宜図面を参照しながら説明する。参照する図1は、第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図であり、図2は、第1実施形態に用いるインサート材の拡大断面斜視図である。

【0053】

(核酸分離精製カートリッジの構造)

図1に示すように、本発明の第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ100は、底部材120と核酸吸着性多孔性膜Fとからなるインサート材110と、このインサート材110に対してインサート射出成形されるバレル140とから構成されている。

なお、第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ100のバレル140は、インサート射出成形により、底部材120および核酸吸着性多孔性膜Fと一体的に形成されるものであるが、図1においては、説明の便宜上、バレル140を分離して示している。

【0054】

なお、図1に示すバレル140、底部121および底部側融着部123が、特許請求の範囲の請求項1および請求項2にいう「筒状本体」に相当する。また、バレル140が、特許請求の範囲の請求項1にいう「筒状本体の筒部を形成する部分」に相当する。

【0055】

(インサート材110)

インサート材110は、核酸分離精製カートリッジ100の底部側を構成する底部材120と、核酸を吸着して採取するための核酸吸着性多孔性膜Fとから構成される。インサート材110は、核酸分離精製カートリッジ100を成形するための射出成型型（底部側金型150およびバレル側金型160）に予めセットされ（図3参照）、キャビティ151に溶融した樹脂Jが注入されることにより、当該樹脂Jにより成形されるバレル140と融着される。なお、かかる樹脂Jが、特許請求の範囲の請求項1および請求項2にいう「成形材料」に相当する。

【0056】

(底部材120)

底部材120は、中央に開口部121aが形成された底部121と、この底部121の下面から延出するノズル122（排出部）と、ノズル122とは反対側に向かって底部121の外周に沿って筒状に延出する底部側融着部123とから構成されている。ノズル122の先端には第2開口122aが形成されており、底部121の開口部121aと連通している。底部側融着部123は、後記するバレル140のバレル側融着部142と融着する部分であり、その内径は、核酸吸着性多孔性膜Fの直径と略等しく形成されている。

【0057】

底部材120の底部121には、図2に示すように、底面121bの外周に沿って、底面121bよりも1段高くなった挟持面125が環状に形成されている。挟持面125は、後記する核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faと当接する面であり、平坦に形成されている。底面121bは、挟持面125側から開口部121a側に向かうほど低くなる（第2開口122a側に近づく）ように傾斜しており、試料溶液が排出され易くなっている。また、底面121bには、6本（図2においては3本のみ図示）のリップ126が放射状に形成されている。リップ126は、底面121bから突出しており、底面121bの傾斜角度よりゆるい角度で、挟持面125側から開口部121a側に向かうほど低くなるように傾

斜している。

【0058】

(核酸吸着性多孔性膜F)

核酸吸着性多孔性膜Fは、前記した底部側融着部123の内径と略同一の直径をした円形状の膜部材である。核酸吸着性多孔性膜Fは、無数の微細な孔を有しており、試料溶液を濾過して核酸を抽出できるようになっている。また、核酸吸着性多孔性膜Fは、前記した底部材120の挟持面125の上に載置されて、インサート材110を構成する(図2参照)。核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faは、挟持面125に当接する部分であり、後記するバレル140の射出成形時の注入圧により挟持面125に押し付けられて保持される。

【0059】

(バレル140)

バレル140は、図1に示すように、円筒状のバレル本体部141と、バレル本体部141に連なる円筒状のバレル側融着部142とからなる。バレル140は、インサート材110を底部側金型150に設置した後(図3参照)、キャビティ151に樹脂Jを射出することにより成形される。バレル140の中空部143は、試料溶液等を一時的に貯留する部分であり、後記するバレル側金型160に備えられたコアピン161によって成形される(図4参照)。

また、図1に示すように、中空部143の上端は開口しており(第1開口143a)、中空部143の下端は核酸吸着性多孔性膜Fによって塞がれることとなる。

バレル側融着部142は、コアピン161と底部材120の底部側融着部123との間に形成された隙間(図5(b)のキャビティ151a)に流入した樹脂Jにより成形される。そのため、実際には、当該隙間に流入した樹脂Jの熱によって底部側融着部123の内周面123a(図2参照)が溶融し、バレル140とインサート材110が一体化されることとなる。なお、底部側金型150およびバレル側金型160が、特許請求の範囲の請求項1および請求項2にいう「射出成型型」に相当する。

【0060】

(核酸分離精製カートリッジの製造方法)

続いて、第1実施形態における核酸分離精製カートリッジの製造方法について、図面を参照して説明する。参照する図面において、図3は、核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)はインサート材設置時、(b)は型閉じ時の状態をそれぞれ示している。また、図4は、同じく核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)は樹脂注入時、(b)は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【0061】

なお、核酸分離精製カートリッジ100の製造には、公知の射出成型機を用いることができる。射出成型機は、射出成型型にインサート材110を設置する必要があることから、縦型射出成型機を用いるのが好ましいが、インサート材110(核酸吸着性多孔性膜F)を所定位置に保持することが可能であれば横型であってもよい。

【0062】

(インサート材110の設置)

はじめに、図3(a)に示すように、予め製造しておいた底部材120の底部121の挟持面125およびリブ126によって支持されるように、核酸吸着性多孔性膜Fを設置して、インサート材110を作製する。そして、このインサート材110を底部側金型150に形成されたキャビティ151内に設置する。

なお、予めインサート材110を作製しておいてもよい。また、インサート材110の作製およびインサート材110の設置は、公知の組み立てロボットなどを用いて行うのが好ましい。

【0063】

(型閉じおよび核酸吸着性多孔性膜Fの保持)

次に、図3(b)に示すように、インサート材110を設置した底部側金型150に、

バレル側金型160を組み合わせて型閉じを行う。

【0064】

バレル側金型160は、核酸分離精製カートリッジ100の中空部143に相当する位置に、円柱状のコアピン161を備えている。コアピン161は、両金型150、160を閉じたときに、コアピン161の先端部162が核酸吸着性多孔性膜Fの上面に当接して、底部材120の挟持面125との間で核酸吸着性多孔性膜Fを挟み込むようになっていいる。このとき、核酸吸着性多孔性膜Fは、次工程で注入する樹脂Jが漏れない程度に、所定の厚さまで圧縮される。換言すれば、コアピン161は、次工程で注入する樹脂Jが漏れない程度の厚さまで核酸吸着性多孔性膜Fを圧縮するように、その長さが調節されている。核酸吸着性多孔性膜Fの固定（押圧）については後に詳しく説明する。

また、バレル側金型160は、樹脂Jを注入するためのゲート163を備えており、キャビティ151に樹脂Jを注入可能となっている。

【0065】

（樹脂注入）

次に、図4（a）に示すように、底部側金型150とバレル側金型160とインサート材110によって形成されたキャビティ151に、溶融した樹脂Jを、ゲート163から射出する。このとき、キャビティ151内に充填された樹脂Jの射出圧力によって、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faが押し潰される。換言すれば、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faが好適に押し潰される程度の射出圧力をかけて、溶融した樹脂Jをキャビティ151に充填する。これについては後に詳しく説明する。

【0066】

（型開きおよび核酸分離精製カートリッジ100の取り出し）

そして、図4（b）に示すように、樹脂Jの充填が完了し、樹脂Jが冷えて硬化したら、射出成形機（図示せず）を操作して型開きを行い、核酸分離精製カートリッジ100を取り出す。

【0067】

ここで、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faが、注入された樹脂Jによって圧縮されて保持される様子について、図5を参照して詳しく説明する。参照する図面において、図5は、図4（b）のA部を拡大して示した断面図であり、（a）は型閉じ時、（b）は型閉じ完了時、（c）は樹脂注入時、（d）は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【0068】

はじめに、型閉じ時においては、図5（a）に示すように、底部側金型150のキャビティ151内にインサート材110として底部材120と核酸吸着性多孔性膜Fが設置されている。核酸吸着性多孔性膜Fは、底部材120の底部121に形成された挟持面125上に周縁部Faが当接するように載置されている。この状態で、射出成形機（図示せず）を操作して、バレル側金型160を降下させる。

【0069】

バレル側金型160のコアピン161の直径は、底部材120の底部側融着部123の内径よりも小さく、かつ、挟持面125の内径よりも大きいように形成されている。したがって、型閉じが完了すると、コアピン161の先端部162の周縁部162aは、図5（b）に示すように、挟持面125の内周側端縁部との間において、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faの一部を挟み込むこととなる。

【0070】

また、コアピン161の先端部162は、リブ126の上端面の傾斜に合わせて、周縁部162aから中心に向かって傾斜するように形成されている。したがって、型閉じが完了すると、核酸吸着性多孔性膜Fは、図5（b）に示すように、リブ126の上端面とコアピン161の先端部162との間、並びに挟持面125の内周側端縁部とコアピン161の先端部162の周縁部162aとの間に挟まれて保持される。

なお、このようにコアピン161の先端部162が底部121の形状に合わせて山形状（錐状体形状）に形成されていることから、コアピン161は底部材120の中心へ自律

的に調心される。そのため、コアピン161が偏心することがなく、所定の部材厚さ（キャビティ151aの空隙の幅）を確保することができる。

【0071】

コアピン161による核酸吸着性多孔性膜Fの圧縮の程度は、核酸吸着性多孔性膜Fを破くことがなく、かつ、樹脂Jの射出圧力によって核酸吸着性多孔性膜Fがずれたりしわが寄ったり、樹脂Jが漏れたりしない程度に圧縮する必要がある。具体的には、膜厚の10%から70%程度の厚さに圧縮するのが好適である。

【0072】

このようにして核酸吸着性多孔性膜Fが圧縮（保持）されると、この核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faと底部側融着部123の内周面123aとコアピン161の外周面161aとによって、バレル140のバレル側融着部142（図1参照）を成形するためのキャビティ151aが形成される。このとき、コアピン161の先端部162からはみ出している核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faは圧縮されていない。

なお、コアピン161が樹脂Jの注入圧によって僅かに傾いたり、底部側融着部123の部材厚さに誤差が生じたりすることを考慮して、キャビティ151aの空隙の幅W（図5（b）参照）は、0.2mm以上とするのが好ましく、0.5mm以上とするのがより好ましい。

【0073】

そして、ゲート163（図4（a）参照）から樹脂Jを注入すると、図5（c）に示すように、キャビティ151aに溶融した樹脂Jが充填される。このとき、溶融した樹脂Jは、核酸吸着性多孔性膜Fに染み込まず、キャビティ151aに面した核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faを溶融した樹脂Jの液圧によって押圧する。したがって、所定の射出圧力で樹脂Jを射出することにより、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faを所定の厚さに圧縮することができる。具体的には、当該周縁部Faの内部の空隙が無くなるまで圧縮する。例えば、発明者による実験の結果、鹼化処理を施したトリアセチルセルロース製の核酸吸着性多孔性膜F（膜厚80 μ m）の場合、30 μ mまで圧縮することにより、試料溶液の回り込みを防止できることが確認されている。このとき、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faの一部は、挟持面125の内周側端縁部とコアピン161の周縁部162aとによって環状に挟み込まれているので、キャビティ151aに注入された樹脂Jが核酸吸着性多孔性膜Fの中央側に流れ込むことがない。

【0074】

また、鹼化処理を施したトリアセチルセルロース製の核酸吸着性多孔性膜F（膜厚80 μ m）と、樹脂Jとして樹脂温度200℃のポリプロピレンを用いて、樹脂Jの射出圧力について実験を行った結果、樹脂Jの射出圧力が14.7MPa（150kgf/cm²）以下の場合には、コアピン161の周囲からはみ出した核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faを圧縮しきれず、その膜厚は60 μ m程度であり、内部の空隙をつぶしきれなかった。また、このようにして製造された核酸分離精製カートリッジ100を使用したところ、試料溶液が核酸吸着性多孔性膜Fの側面に回りこんでしまった。一方、射出圧力が147MPa（1500kg/cm²）以上の場合には、製造時に核酸吸着性多孔性膜Fが破れてしまった。したがって、樹脂Jの射出圧力は14.7MPaより大きく147MPaより小さい範囲で設定するのがよい。

【0075】

図5（d）に示すように、樹脂Jが硬化してバレル140が成形された後に型開きを行うと、バレル140の中空部143からコアピン161が抜き取られる。このとき、核酸吸着性多孔性膜Fの周縁部Faは、射出成形されたバレル側融着部142と挟持面125に挟まれて挟持されており、核酸分離精製カートリッジ100の底部121において支持される。また、底部側融着部123の内周面123aは、注入時の樹脂Jの熱により溶融し、バレル側融着部142の外周面142aと一体化する。

【0076】

これにより、バレル140が成形されると同時に核酸吸着性多孔性膜Fが保持されるこ

となり、従来のようにカートリッジを構成する2つの部品を固着するための専用装置が不要となる。また、樹脂Jの射出圧力により核酸吸着性多孔性膜Fを圧縮して保持するため、部品の寸法誤差による核酸吸着性多孔性膜Fのシール不足や破れを心配する必要がない。

【0077】

(核酸分離精製カートリッジ100の使用法)

続いて、核酸分離精製カートリッジ100の使用法について説明する。参照する図6は、第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【0078】

核酸分離精製カートリッジ100を用いて、核酸を含む検体から核酸を分離精製する工程は、この工程を自動で行う自動装置を用いて行うことが好ましい。これにより、操作が簡便化および迅速化だけでなく、作業者の技能によらず一定の水準の核酸を得ることが可能になる。

【0079】

例えば、前記した自動装置(図示せず)は、核酸分離精製カートリッジ100のバレル140の第1開口143aからノズル122の第2開口122aへ向けて、核酸を含む試料溶液を、加圧ガスの一例である加圧エアにより通流させることで、核酸吸着性多孔性膜Fに核酸を吸着させた後、同様に洗浄液S₂を通流させて不純物を除去し、続いて、同様に回収液を通流させて核酸吸着性多孔性膜Fに吸着した核酸を離脱させ、回収液と共に回収する分離精製動作を自動的に行う核酸分離精製装置であって、核酸分離精製カートリッジ100と試料溶液および洗浄液S₂の排出液を収容する廃液容器と核酸を含む回収液を収容する回収容器とを保持する搭載機構と、核酸分離精製カートリッジ100に加圧エアを導入する加圧エア供給機構と、核酸分離精製カートリッジ100に洗浄液S₂および回収液を分注する分注機構とを備えているものを使用することができる。

【0080】

前記搭載機構は、装置本体に搭載されるスタンドと、このスタンドに上下移動可能に支持され核酸分離精製カートリッジ100を保持するカートリッジホルダーと、このカートリッジホルダーの下方で核酸分離精製カートリッジ100に対する位置を交換可能に前記廃液容器および前記回収容器を保持する容器ホルダーとを備えてなるものが好適である。

【0081】

また、前記加圧エア供給機構は、下端部より加圧エアを噴出するエアノズルと、このエアノズルを支持して前記カートリッジホルダーに保持された核酸分離精製カートリッジ100に対し前記エアノズルを昇降移動させる加圧ヘッドと、この加圧ヘッドに設置され前記搭載機構のラックにおける核酸分離精製カートリッジ100の位置決めをする位置決め手段とを備えてなるものが好適である。

【0082】

また、前記分注機構は、洗浄液S₂を分注する洗浄液分注ノズルと、回収液を分注する回収液分注ノズルと、前記洗浄液分注ノズルおよび前記回収液分注ノズルを保持し、前記搭載機構に保持された核酸分離精製カートリッジ100上を順に移動可能なノズル移動台と、洗浄液S₂を収容した洗浄液ボトルより洗浄液S₂を吸引し、前記洗浄液分注ノズルに供給する洗浄液供給ポンプと、回収液を収容した回収液ボトルより回収液を吸引し、前記回収液分注ノズルに供給する回収液供給ポンプとを備えてなるものが好適である。

【0083】

本発明において使用できる検体に制限はないが、例えば診断分野においては、検体として採取された全血、血漿、血清、尿、便、精液、唾液等の体液、あるいは植物(またはその一部)、動物(またはその一部)等、あるいはそれらの溶解物およびホモジネート等の生物材料から調製された溶液が対象となる。

【0084】

最初にこれらの検体について細胞膜および核膜を溶解して核酸を可溶化する試薬を含む水溶液で処理する。これにより細胞膜および核膜が溶解されて、核酸が水溶液内に分散し

、核酸を含む試料溶液を得る。例えば、検体が全血の場合、これに塩酸グアニジン、Tris、Triton-X100、プロテアーゼK（SIGMA製）を添加し、60℃で10分インキュベートすることによって赤血球の除去、各種タンパク質の除去、白血球の溶解および核膜の溶解がなされる。

【0085】

このようにして得られた試料溶液を、バレル140の中空部143に投入し（図6参照）、ノズル122へ向けて圧力をかけて通流させる。こうすると、試料溶液中の核酸が核酸吸着性多孔性膜Fに吸着される。

【0086】

次に、図6に示すように、洗浄液S₂をバレル140の第1開口143aからノズル122へ向けて圧力をかけながら通流させる。この洗浄液S₂は、核酸吸着性多孔性膜Fに吸着した核酸を離脱させずに、不純物を離脱させる組成を有するものである。この洗浄工程において、加圧した際、図6に示すように、核酸吸着性多孔性膜Fがリブ126の傾斜形状に沿って、ノズル122側に向かって凸状に変形する。これにより、洗浄液S₂が、底部121に残留することなく、速やかにノズル122から排出される。

【0087】

洗浄液S₂は、水溶性有機溶媒および塩の双方、または水溶性有機溶媒もしくは塩のうちいずれか1つを含んでいる溶液であることが好ましい。アルコール等の水溶性有機溶媒は、核酸が難溶性であるので、核酸を保持したまま核酸以外の成分を離脱させるのに適している。また、塩を添加することにより、核酸の吸着効果が高まる。

【0088】

洗浄液S₂に含まれる水溶性有機溶媒として、メタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、アセトン等を用いることができるが、エタノールを用いることが好ましい。また、洗浄液S₂に含まれる水溶性有機溶媒は、好ましくは20～100容量%であり、より好ましくは40～80容量%である。

【0089】

また、洗浄液S₂に含まれる塩は、ハロゲン化物の塩であることが好ましい。さらには、塩が、一価または二価のカチオンを有し、かつその塩が10mM以上含まれていることが好ましい。より好ましくは、塩が、塩化ナトリウムであり、さらには、この塩化ナトリウムが20mM以上含まれていることが好ましい。

【0090】

次に、精製蒸留水またはTEバッファ等の回収液をバレル140の第1開口143aからノズル122へ向けて圧力をかけながら通流させ、核酸を核酸吸着性多孔性膜Fから離脱させて流し出し、ノズル122から排出された回収液（核酸を含有する回収液）を回収する。

【0091】

なお、回収液は、検体から調整した核酸を含む試料溶液の体積に対して、回収液の体積を調整して核酸の脱離を行うことができる。分離精製された核酸を含む回収液量は、そのとき使用する検体量による。一般的によく使われる回収液量は数10から数100μlであるが、検体量が極微量であるときや、逆に大量の核酸を分離精製したい場合には回収液量は1μlから数10mlの範囲で変えることができる。

【0092】

回収液のpHは、pH2～11であることが好ましい。さらには、pH5～9であることが好ましい。また特にイオン強度と塩濃度は吸着核酸の溶出に効果を及ぼす。このため、回収液は、290mモル/l以下のイオン強度であることが好ましく、さらには、90mモル/l以下の塩濃度であることが好ましい。こうすることで、核酸の回収率が向上し、より多くの核酸を回収することができる。

また、回収される核酸は、デオキシリボ核酸（DNA）あるいはリボ核酸（RNA）であってよく、さらに、これら核酸において1本鎖あるいは2本鎖のものであってもよい。

【0093】

ここで特に、回収対象とされる核酸がRNAである場合、RNA分解酵素(RNase)を不活性化させることが望ましい。特に、洗浄液S₂や回収液を作製する水は、DEPC(Diethyl Pyrocarbonate)処理したものを用いることが望ましい。

【0094】

このようにして得られた回収液に含まれる核酸は、紫外可視分光光度計での測定値(260nm/280nm)が、DNAの場合は1.6~2.0、RNAの場合は1.8~2.2となる純度を有する。すなわち、不純物混入量の少ない高純度の核酸を定常的に得ることができる。さらには、紫外可視分光光度計での測定値(260nm/280nm)がDNAの場合は1.8付近、RNAの場合は2.0付近となる純度を持つ核酸を回収することができる。

【0095】

なお、核酸分離精製カートリッジ100は前記のように自動装置によって好適に使用することができるが、手動で操作する場合であっても用いることができる。この場合、試料溶液等を加圧する手段としては、注射器、ピペッタを用いることができる。注射器やピペッタは、核酸分離精製カートリッジ100の一の開口(第1開口143a側)に着脱可能に結合することができる。

【0096】

(各部材の材料等)

バレル140および底部材120の材料としては、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリ塩化ビニル等のプラスチックを使用することができる。また、生分解性の材料も好適に使用することができる。また、バレル140および底部材120は透明であっても、着色してあってもよい。

【0097】

核酸吸着性多孔性膜Fとしては、イオン結合が関与しない弱い相互作用で核酸が吸着する多孔性膜が好適である。より好適には、核酸吸着性多孔性膜Fは、親水基を有する多孔性膜であり、多孔性膜を形成する材料自体が、親水基を有する多孔性膜、または多孔性膜を形成する材料を処理もしくはコーティングすることによって親水基を導入した多孔性膜である。多孔性膜を形成する材料は有機物、無機物のいずれでもよい。例えば、多孔性膜を形成する材料自体が親水基を有する有機材料である多孔性膜、親水基を持たない有機材料の多孔性膜を処理して親水基を導入した多孔性膜、親水基を持たない有機材料の多孔性膜に対し親水基を有する材料でコーティングして親水基を導入した多孔性膜、多孔性膜を形成する材料自体が親水基を有する無機材料である多孔性膜、親水基を持たない無機材料の多孔性膜を処理して親水基を導入した多孔性膜、親水基を持たない無機材料の多孔性膜に対し親水基を有する材料でコーティングして親水基を導入した多孔性膜等を使用することができるが、加工の容易性から、多孔性膜を形成する材料は有機高分子等の有機材料を用いることが好ましい。

【0098】

親水基を有する多孔性膜としては、水酸基を有する有機材料の多孔性膜を挙げることができる。水酸基を有する有機材料としては、前記した特許文献1に記載のアセチルセルロースの表面鹸化物が挙げられる。アセチルセルロースとしては、モノアセチルセルロース、ジアセチルセルロース、トリアセチルセルロースのいずれでもよいが、特にトリアセチルセルロースが好ましい。この場合、鹸化处理の程度(鹸化度)で固相表面の水酸基の量(密度)をコントロールすることができる。核酸の分離効率を上げるためには、水酸基の量(密度)が多い方が好ましい。例えば、トリアセチルセルロース等のアセチルセルロースの場合には、鹸化率が5%以上であることが好ましく、10%以上であることがより好ましい。また、鹸化处理の程度(鹸化度)と多孔性膜の孔径との組合せにより、固相内部の水酸基の量(密度)をコントロールすることができる。この場合、多孔性膜は、表裏対称性の多孔性膜であってもよいが、表裏非対称性の多孔性膜を好適に使用することができる。

【0099】

また、水酸基を有する有機材料の多孔性膜として、アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物からなる有機高分子の多孔性膜も好適に使用することができる。特にアセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物としては、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合物を好適に使用することができる。トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、99:1~1:99であることが好ましい。より好ましくは、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、90:10~50:50である。

【0100】

アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物として、トリアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物、ジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物も使用することができる。

【0101】

また、水酸基を有する有機材料の多孔性膜としては、アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化处理した有機材料からなる多孔性膜を挙げることができる。アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化处理した有機材料は、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合物の鹸化物を好適に使用することができる。トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、99:1~1:99である事が好ましい。さらには、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、90:10~50:50であることが好ましい。

【0102】

アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化处理した有機材料として、トリアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物、ジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物も使用することができる。

【0103】

また、核酸吸着性多孔性膜Fには、厚さが10~500 μ mである多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、厚さが50~250 μ mである多孔性膜を使用することができる。

【0104】

また、核酸吸着性多孔性膜Fには、最小孔径が0.22 μ m以上である多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、最小孔径が0.5 μ m以上である多孔性膜を使用することができる。また、核酸吸着性多孔性膜Fには、最大孔径と最小孔径の比が2以上である多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、最大孔径と最小孔径の比が5以上である多孔性膜を使用することができる。

【0105】

また、核酸吸着性多孔性膜Fには、空隙率が50~95%である多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、空隙率が65~80%である多孔性膜を使用することができる。また、核酸吸着性多孔性膜Fには、バブルポイントが、9.8~980kPa (0.1~10kgf/cm²)である多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、バブルポイントが、19.6~392kPa (0.2~4kgf/cm²)である多孔性膜を使用することができる。

【0106】

また、核酸吸着性多孔性膜Fには、圧力損失が、0.1~100kPaである多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、圧力損失が、0.5~50kPaである多孔性膜を使用することができる。ここで、圧力損失とは、膜の厚さ100 μ mあたり、水を通過させるのに必要な最低圧力である。

【0107】

また、核酸吸着性多孔性膜Fには、多孔性膜1mgあたりの核酸の吸着量が0.1 μ g

以上である多孔性膜を好適に使用することができる。より好適には、多孔性膜 1 mg あたりの核酸の吸着量が 0.9 μ g 以上である多孔性膜を使用することができる。

【0108】

[第2実施形態]

続いて、本発明の第2実施形態について説明する。参照する図面において、図7は、第2実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ群の斜視図である。

【0109】

核酸分離精製カートリッジ群 190 は、図7に示すように、多数個の核酸分離精製カートリッジ 192 が連続して成形されたものである。

【0110】

核酸分離精製カートリッジ群 190 を構成する核酸分離精製カートリッジ 192 は、第1実施形態において説明した核酸分離精製カートリッジ 100 と、その構造をほとんど同じくするものであるが、隣り合う核酸分離精製カートリッジ 192 の一部（接続部 193）で互いに連続している。

【0111】

核酸分離精製カートリッジ群 190 は、互いに連通した多数のキャビティ 151（図3参照）が形成された射出成型型（図示省略）を用いて作製される。そのため、多数のキャビティ 151 にセットされた多数の核酸吸着性多孔性膜 F の周縁部 F a を押圧する樹脂 J の圧力が均等となる。したがって、核酸吸着性多孔性膜 F を押圧する力のばらつきによって核酸吸着性多孔性膜 F が破れたりシール不足となったりすることがなく、一度に多数個の核酸分離精製カートリッジ 192（核酸分離精製カートリッジ群 190）を効率よく製造することができる。

【0112】

以上、本発明に係る核酸分離精製カートリッジの第1実施形態及び第2実施形態について説明したが、本発明は前記の実施形態には限定されない。例えば、第2実施形態にかかる核酸分離精製カートリッジ群 190 は、核酸分離精製カートリッジ 192 同士が直接連結された状態となっているが、キャビティ間をランナーで連通した射出成型型で射出成型することにより、核酸分離精製カートリッジ 192 が直接連結しない構成とすることができる。また、第1実施形態における核酸分離精製カートリッジ 100 は、前記ランナーで連通させて射出成型した後、当該ランナーを切除して、多数の核酸分離精製カートリッジ 100 を製造するようにしてもよい。

【0113】

[第3実施形態]

次に、本発明の第3実施形態について、適宜図面を参照しながら説明する。参照する図8は、本発明の第3実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図であり、図9は、本発明の第3実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図であり、図10は、本発明の第3実施形態に用いられるキャップの拡大断面斜視図であり、図11は、図10のX-X線断面図であり、図12は図9のB部における拡大図であり、図13は、本発明の第3実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの洗浄工程を示す断面図である。なお、以下の説明において、「上」、「下」の表現は、図9を基準とする。

【0114】

図8に示すように、本発明の第3実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ 200 は、核酸吸着性多孔性膜 F と、核酸吸着性多孔性膜 F を保持するとともに、液体が通流する通路を形成するバレル 210 およびキャップ 220 とから構成されている。

【0115】

(バレル 210)

バレル 210 は、円筒状のバレル本体部 212 と、バレル本体部 212 に連なる円筒状のバレル側嵌合部 213 とからなり、バレル本体部 212 の上部には第1開口 211 a、バレル側嵌合部 213 の下部には開口 211 b が形成されている。そのため、バレル 210 の上方から下方に向けて、液体が通流可能である。また、バレル側嵌合部 213 の外径

は、バレル本体部 212 の外径より一回り小さくなっている。

【0116】

(キャップ 220)

キャップ 220 は、円筒状のキャップ側嵌合部 222 と、キャップ側嵌合部 222 の底部 222a に設けられた開口 223 に連なる排出部 224 とからなる。底部 222a に設けられた開口 223 は、前記したバレル本体部 212 の上部に設けられた第 1 開口 211a より小さい径を有している。また、キャップ側嵌合部 222 の上部には開口 221a、排出部 224 の下部には第 2 開口 221b が形成されている。そのため、キャップ 220 の上方から下方へ向けて、液体が通流可能である。また、キャップ側嵌合部 222 の内径は、前記バレル 210 のバレル側嵌合部 213 の外径と嵌合可能な直径に形成されている。

。

【0117】

そして、図 9 に示すように、キャップ 220 のキャップ側嵌合部 222 の底部 222a に、核酸吸着性多孔性膜 F を配置した状態で、バレル 210 のバレル側嵌合部 213 をキャップ 220 のキャップ側嵌合部 222 へ嵌入することで、核酸吸着性多孔性膜 F をバレル 210 とキャップ 220 との間で挟持することができる。なお、第 1 開口 211a および第 2 開口 221b はそれぞれ、特許請求の範囲の請求項 3 にいう「第 1 開口」および「第 2 開口」に相当し、バレル 210 およびキャップ 220 は特許請求の範囲の請求項 3 にいう「筒状体」に相当し、バレル 210 およびキャップ側嵌合部 222 は特許請求の範囲の請求項 3 にいう「筒状本体」に相当し、キャップ側嵌合部 222 の底部 222a は特許請求の範囲の請求項 3 にいう「底部」に相当し、開口 223 は特許請求の範囲請求項 3 にいう「底部開口」に相当し、排出部 224 は特許請求の範囲の請求項 3 にいう「排出部」に相当する。

【0118】

キャップ 220 は、図 10 に示すように、キャップ側嵌合部 222 の底面 222b に、6 本（図においては 3 本のみ図示）の放射状のリブ 226 が形成されている。このリブ 226 は、核酸分離精製カートリッジ 200 が組み立てられた状態において、それぞれの外周側端部 226a の頂部 226c が核酸吸着性多孔性膜 F に当接し、核酸吸着性多孔性膜 F を支持している（図 9 参照）。また、リブ 226 は、核酸分離精製カートリッジ 200 の使用時において、核酸吸着性多孔性膜 F が開口 223 に近づくほど排出部 224 の方へ変位するように、外周側端部 226a から内部側端部 226b に向けて、排出部 224 側に傾斜している。また、底面 222b の外周縁には、リブ 226 の外周側端部 226a に連なるように、底面 222b から一段高くなった挟持面 225 が、全周にわたって形成されている。この挟持面 225 は、バレル 210 の開口 211b の端縁にあたる開口縁部 214（図 8 参照）との間で、核酸吸着性多孔性膜 F を挟持する面である。この挟持面 225 の幅は、開口縁部 214 の幅に合わせて形成するのが好ましい。なお、リブ 226 は特許請求の範囲の請求項 3 にいう「突起」の一例であり、「突起」は必ずしもリブ形状でなく、山形の突起を複数散点的に形成してもよい。

【0119】

(リブ 226)

リブ 226 は、放射状に形成されているため、液体を上方から下方へ流した際に、液体が排出部 224 へスムーズに流れ込むようになっている。

また、リブ 226 は、外周側端部 226a から内部側端部 226b に向けて、その頂部 226c が排出部 224 側に傾斜しているため、洗浄工程において、後記する洗浄液 S₂（図 13 参照）を加圧ガスにより通流させる際、核酸吸着性多孔性膜 F がリブ 226 の頂部 226c に沿って、排出部 224 側に向かって凸状に変形する。これにより、洗浄液 S₂ が、底部 222a に残留することなく、速やかに排出部 224 から排出される。なお、キャップ側嵌合部 222 の径方向に対するリブ 226 の傾斜角度 $\theta 1$ （図 12 参照）は、好ましくは 3° 以上、より好ましくは 5° 以上である。

【0120】

また、図 11 に示すように、リブ 226 は、横断面で見たときに、頂部 226c が円弧状に形成されている。これにより、リブ 226 の頂部 226c と核酸吸着性多孔性膜 F との間に洗浄液 S₂ が滞留し難くなるので、洗浄液 S₂ がより速やかに排出される。なお、リブ 226 の頂部 226c の曲率半径はリブ 226 の幅に対して 1/4 以上が好ましく、より好ましくは 1/3 以上、最も好ましくは 1/2 以上である。

【0121】

(核酸分離精製カートリッジ 200 の断面形状)

次に、核酸分離精製カートリッジ 200 の断面形状について、図 12 を参照して説明する。図 12 に示すように、キャップ側嵌合部 222 の底面 222b は、開口 223 に近付くほど排出部 224 の方へ変位する傾斜を有している。これにより、洗浄液 S₂ がより速やかに排出される。また、キャップ側嵌合部 222 の径方向に対する底面 222b の傾斜角度 $\theta 2$ は、好ましくは 10° 以上、より好ましくは 15° 以上、最も好ましくは 20° 以上である。

【0122】

また図 12 に示すように、核酸分離精製カートリッジ 200 は、内面に存在する角部（例えば開口 223 の縁部 223a 等）および隅部（例えば底面 222b の外周縁部 222c 等）が円弧状に形成されている。これにより、内面に存在する角部および隅部に、洗浄液 S₂ が滞留し難くなるので、洗浄液 S₂ がより速やかに排出される。なお、角部の曲率半径は 0.1 mm 以上が好ましく、より好ましくは 0.2 mm 以上、最も好ましくは 0.3 mm 以上である。また、隅部の曲率半径は 0.1 mm 以上が好ましく、より好ましくは 0.15 mm 以上、最も好ましくは 0.2 mm 以上である。

【0123】

また、バレル 210 の軸とバレル 210 の内周面 210a とがなす角度 $\theta 3$ は、好ましくは 10° 以下、より好ましくは 5° 以下である。これにより、洗浄液 S₂ がバレル 210 の内周面 210a を伝って流れ易くなるので、洗浄液 S₂ がより速やかに排出される。

【0124】

また、核酸吸着性多孔性膜 F は、バレル 210 の開口縁部 214 とキャップ 220 の挟持面 225 との間に、その周縁部 Fa が潰れた状態で保持されている。これにより、核酸吸着性多孔性膜 F を通るべき液体（試料溶液等）が、核酸吸着性多孔性膜 F の側部 Fb に回り込む不具合を防ぐことができる。この核酸吸着性多孔性膜 F を安定して保持するためには、開口縁部 214 と挟持面 225 とを超音波溶着等により固着するのが好ましい。

【0125】

なお、バレル 210、キャップ 220 および核酸吸着性多孔性膜 F の材料については第 1 実施形態で説明しているので、その説明を省略する。また、核酸分離精製カートリッジ 200 を用いて核酸を含む検体から核酸を分離精製する工程や、この工程を自動で行う自動装置などについても前記の第 1 実施形態の説明の中で既に説明しているので、その説明を省略する。

【0126】

(核酸分離精製カートリッジ 200 の作用および効果)

続いて、核酸分離精製カートリッジ 200 の作用および効果について説明する。

まず、核酸を含む試料溶液を、バレル 210 の第 1 開口 211a（図 9 参照）から排出部 224 の第 2 開口 221b へ向けて、加圧エアにより通流させる。これにより、試料溶液中の核酸が核酸吸着性多孔性膜 F に吸着される。

【0127】

次に、図 13 に示すように、洗浄液 S₂ をバレル 210 の第 1 開口 211a から排出部 224 の第 2 開口 221b へ向けて加圧エアにより通流させる。この洗浄液 S₂ は、核酸吸着性多孔性膜 F に吸着した核酸を離脱させずに、不純物を離脱させる組成を有するものである。この洗浄工程において、洗浄液 S₂ を加圧エアにより通流させる際、図 13 に示すように、核酸吸着性多孔性膜 F がリブ 226 の傾斜形状に沿って、排出部 224 側に向かって凸状に変形する。これにより、洗浄液 S₂ が、底部 222a、特に核酸吸着性多孔

性膜Fとバレル210の内周面210aとにより形成される隅部227に残留することなく、速やかに排出部224から排出される。

【0128】

この際、核酸分離精製カートリッジ200の内壁面（バレル210の内周面210a等）に対する洗浄液S₂の液滴Wdの接触角が90°以上の場合は、例えば、図1.3に示すように、バレル210の内周面210aに液滴Wdとして残留しても、その液滴Wdは表面張力により略球状となるため、加圧エアにより除去し易くなる。これにより、洗浄液S₂がより速やかに排出される。

また、核酸分離精製カートリッジ200の内壁面に対する洗浄液S₂の液滴Wdの接触角が80°以下である場合は、核酸分離精製カートリッジ200の内壁面に対する洗浄液S₂の濡れ性が向上し、洗浄液S₂が液滴Wdとして残留し難くなるため、洗浄液S₂がより速やかに排出される。

【0129】

一方、比較例として、キャップ側嵌合部222の径方向に対するリブ226の傾斜角度 $\theta 1$ （図12参照）を0°にして、前記したように分離精製した場合は、排出された回収液中のエタノールの濃度は4容量%を超えていた。この排出された回収液を用いてPCRや逆転写酵素反応を行うと、収率の低下が見られた。

【0130】

このように、本実施形態の核酸分離精製カートリッジ200では、洗浄工程において、洗浄液S₂が核酸分離精製カートリッジ200の内部に残留せずに、速やかに排出されるので、排出された回収液への洗浄液S₂の混入を抑えることができる。これにより、次工程において、洗浄液S₂に起因する不具合を未然に防ぐことができる。

【0131】

なお、前記第3実施形態では、バレルをキャップへ嵌入することにより筒状体を形成したが、本発明はこれに限定されない。例えば、キャップを金型に設置し、バレル部分をインサート成形により形成することによって、バレルとキャップとが一体成形されたものを筒状体として用いてもよい。

【0132】

〔第4実施形態〕

次に、本発明の核酸分離精製カートリッジの第4実施形態について適宜図面を参照しつつ説明する。参照する図面において、図14は、本発明の第4実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図であり、図15は、本発明の第4実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。また、図16は、本発明の第4実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの排出部を拡大した断面図である。図17は、本発明の第5実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの排出部を拡大した断面図である。図18は、本発明の第6実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの排出部を拡大した断面図である。なお、以下の説明において、「上」、「下」の表現は、核酸分離精製カートリッジの使用状態、具体的には図15に示すような状態を基準とする。

【0133】

（核酸分離精製カートリッジ300の構成）

まず、図14および図15を参照して、第4実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ300の全体的な構成について説明する。

発明の第4実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ300は、核酸吸着性多孔性膜Fと、核酸吸着性多孔性膜Fを保持するとともに、溶液が通流する通路を形成するバレル310およびキャップ320とから構成されている。

【0134】

次に、図14の分解斜視図を参照して各構成部品について、より詳細に説明する。

（バレル310）

バレル310は、円筒状のバレル本体部312と、バレル本体部312に連なる円筒状のバレル側嵌合部313とからなり、バレル本体部312の上部には第1開口311、バ

レル側嵌合部 313 の下部には開口 314 が形成されている。そのため、バレル 310 の上方から下方に向けて、溶液等 S (図 15 参照) が通流可能である。また、バレル側嵌合部 313 の外径は、バレル本体部 312 の外径より一回り小さくなっている。

【0135】

(キャップ 320)

キャップ 320 は、円筒状のキャップ側嵌合部 325 と、キャップ側嵌合部 325 の底部 322 に設けられた底部開口 323 に連なる排出部 302 とからなる。底部 322 に設けられた底部開口 323 は、前記したバレル本体部 312 の上部に設けられた第 1 開口 311 より小さい径を有している。また、キャップ側嵌合部 325 の上部には開口 327 が形成され、排出部 302 の下部には第 2 開口 321 が形成されている。そのため、キャップ 320 の上方から下方へ向けて、液体が通流可能である。また、キャップ側嵌合部 325 の内径は、前記バレル 310 のバレル側嵌合部 313 の外径と嵌合可能な直径に形成されている。

【0136】

そして、図 15 に示すように、キャップ 320 のキャップ側嵌合部 325 の底部 322 に、核酸吸着性多孔性膜 F を配置した状態で、バレル 310 のバレル側嵌合部 313 をキャップ 320 のキャップ側嵌合部 325 へ嵌入することで、核酸吸着性多孔性膜 F をバレル 310 とキャップ 320 との間で挟持することができる。また、キャップ 320 の底部 322 には少なくとも 3 本、好ましくは 6 本の放射状に形成されたリブ 326 が形成されている。そして、このリブ 326 の角部は、キャップ側嵌合部 325 の底部 322 の中心に設けられた底部開口 323 に向かって下り傾斜形状を呈するように形成されている。

なお、バレル 310、キャップ側嵌合部 325 および底部 322 で構成される部分が特許請求の範囲の請求項 4 にいう「筒状本体」に相当し、キャップ 320 の底部開口 323 と第 2 開口 321 とを連通する筒として構成される排出部 302 が特許請求の範囲にいう「排出部」に相当し、この筒状本体と排出部とで筒状に構成されるものが特許請求の範囲の請求項 4 にいう「筒状体」に相当する。

【0137】

(排出部 302 および端面 324 の構成)

次に、本発明の第 4 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ 300 の排出部 302 や排出部 302 の端面 304 の好適な構成について、図 14 および図 15 を参照しつつ、図 16 および図 17 を参照して詳細に説明する。

【0138】

図 16 の拡大断面図に示すように、核酸分離精製カートリッジ 300 の排出部 302 は、キャップ 320 の下半分を構成するものであり、筒状本体の底部 322 の底部開口 323 に一端が連なり、他端が廃液を排出するための第 2 開口 321 を形成する筒として構成されている。このように構成することにより、核酸分離精製カートリッジ 300 の下部に配置された廃液容器 400 (図 20 参照) へ向かって正確に廃液を導くことができる。これは、例えば、後記する自動装置によって当該核酸分離精製カートリッジ 300 を多連で使用した場合に、他サンプルの溶液へのコンタミネーション防止に有効である。

なお、このキャップ 320 の第 2 開口 321 を形成する部分の端面 324 の肉厚 T は、0.2 mm 以上に構成するのがよい。第 2 開口 321 を形成する部分の肉厚 T を 0.2 mm 以上となるように形成すれば、試料溶液 S₁ (図 15 参照) の泡がエアの巻き上げによって煽られた場合であっても、この第 2 開口 321 を形成する部分の肉厚 T を乗り越えて排出部 302 の外壁面 302a に付着することはない。これは、肉厚 T を厚くするほど確実な効果がみられるので、肉厚 T を 0.5 mm 以上に形成することがさらに好ましい。

【0139】

また、核酸分離精製カートリッジ 300 におけるキャップ 320 の第 2 開口 321 の開口径 r は 1.0 mm 以上に形成するのがよい。開口径 r を 1.0 mm 以上に形成すると、廃液を良好に排出することができる。

【0140】

さらに、キャップ 320 の端面 324 の外径 R は、1.4 mm 以上に形成するのがよい。排出部 302 の端面 324 の外径 R を 1.4 mm 以上とすれば、前記した肉厚 T を 0.2 mm 以上確保することができるほか、第 2 開口 321 を形成する部分の強度を高く保つことができる。なお、前記理由により、この外径 R は、2.0 mm 以上であることがより好ましい。

【0141】

次に、同じく図 16 および図 17 を参照して、キャップ 320 の排出部 302 やキャップ 320 の端面 324 の形状について説明する。

キャップ 320 の排出部 302 は、端面 324 と外壁面 302a とのなす角度 θ_4 を 105° 以下に構成するのがよい。このように構成することで、外壁面 302a に泡が付着した場合であっても、泡は第 2 開口 321 の近傍に集まるので、洗浄液 S_2 によってこれを取り除くことができる。なお、排出部 302 の外壁面 302a とのなす角度 θ_4 を 100° 以下とするのがより好ましく、 95° 以下とするのがさらに好ましい。

【0142】

[第 5 実施形態]

また、本発明の核酸分離精製カートリッジに係る第 4 実施形態としては、図 17 に示すように、排出部 302 の端面 324 の形状を第 2 開口 321 へ近付くにつれ開口径 r が広がる漏斗形状としてもよい。このようにすると、第 2 開口 321 の外縁部は外壁面 302a と鋭角をもって形成されるので、下方からエアが巻き上がってきた場合であっても、泡は外縁部を越えて外壁面 302a に付着し難くなる。

なお、この場合、排出部 302 の端面 324 と外壁面 302a とのなす角度 θ_5 を、 30° 以上とするのがよい（図 17 参照）。 30° 未満とすると試料溶液 S_1 が端面 324 の外縁に集まり、前記した肉厚 T を確保した意味がなくなる。

【0143】

また、端面 324 および外壁面 302a の樹脂親水性を高めるのが好ましい。すなわち、核酸分離精製カートリッジ 300 を構成する材質を濡れ易いものとするのが好ましい。端面 324 および外壁面 302a を親水性とすることにより、洗浄液 S_2 の撥水作用を抑え、かつ、洗浄液 S_2 による泡の引き込みを行うことができる。

なお、当該核酸分離精製カートリッジ 300 のバレル 310 およびキャップ 320 の内壁面 302b における排水性を考慮すると、この内壁面 302b は撥水性であることが好ましく、疎水性合成樹脂を用いて核酸分離精製カートリッジ 300 を作製することが好ましい。

【0144】

ここで、疎水性合成樹脂を用いて作製した核酸分離精製カートリッジ 300 において、キャップ 320 の端面 324 と外壁面 302a の親水性を高めるには、以下の処理を施すことにより行うことができる。

まず、疎水性合成樹脂であるポリスチレンを用いて射出成形により第 2 開口 321 側を封じた状態のキャップ 320 を作製する。このとき、必要であれば、第 2 開口 321 の形状を前記した任意の形状に加工するのがよい。そして、キャップ 320 の端面 324 と外壁面 302a（好ましくは第 2 開口 321 となる近傍の外壁面 302a）をプラズマ処理することによって、端面 324 および外壁面 302a の親水性を向上させる。このようにすることで内壁面 302b は撥水性が高く、排出部 302 の外壁面 302a および端面 324 の親水性が高いキャップ 320 を得ることができる。

なお、キャップ 320 とバレル 310 とを一体的に成形した核酸分離精製カートリッジ 300 であっても同様の処理を行うことで端面 324 と外壁面 302a の親水性を高くすることができる。

【0145】

その他、疎水性合成樹脂に親水性を付与する方法としては、前記したプラズマ処理に限られることはなく、疎水性合成樹脂の表面を修飾し、親水性を向上させることのできる薬品等を用いることもできる。すなわち、射出成形したキャップ 320 の端面 324 および

外壁面 302a を当該薬品で処理することにより、外壁面 302a および端面 324 の親水性を向上させたキャップ 320 を得ることができる。

【0146】

[第6実施形態]

また、本発明の核酸分離精製カートリッジに係る第6実施形態としては、図18に示すように、キャップ320の端面324に、泡を誘導するための爪部材328を形成するのが好ましい。また、この爪部材328を棒状に形成するのがより好ましい。さらには、この爪部材328の内側の位置が内壁面302bと一致するように形成するのが好ましい。このように構成することで、第2開口321に到達した泡は、内壁面302bに延設された棒状の爪部材328を伝ってその先端部分、すなわち、第2開口321よりさらに下方位置で凝集し易くなり、廃液容器400に落ち易くなる結果、泡の外壁面302aへの付着を防止することができる。

なお、この棒状の爪部材328は前記した目的を達成することができればよく、1本から複数本の間で任意の数を設けることができる。

【0147】

次に、図15へ戻って説明を続けると、リブ326は、放射状に形成されているため、液体を上方から下方へ流した際に、液体が排出部302へスムーズに流れ込むようになっている。

また、リブ326は、底部開口323側に下り傾斜形状を呈するように形成されているため、溶液等Sをバレル310の第1開口311側から加圧すると、核酸吸着性多孔性膜Fがリブ326の傾斜形状に沿って、底部開口323側に向かって凸状に変形する。これにより、溶液等Sが、底部322に残留することなく、速やかに底部開口323から排出される。

【0148】

なお、バレル310、キャップ320および核酸吸着性多孔性膜Fの材料については第1実施形態で説明しているので、その説明を省略する。また、核酸分離精製カートリッジ300を用いて核酸を含む検体から核酸を分離精製する工程や、この工程を自動で行う自動装置などについても前記の第1実施形態の説明の中で既に説明しているので、その説明を省略する。

【0149】

以上、本発明に係る核酸分離精製カートリッジを実施するための最良の形態について説明したが、本発明は前記の実施形態には限定されない。例えば、前記した実施形態では、核酸吸着性多孔性膜を1枚収容した核酸分離精製カートリッジとしたが、核酸吸着性多孔性膜を複数枚収容した核酸分離精製カートリッジとしてもよい。この場合、収容される複数枚の核酸吸着性多孔性膜は、同一のものであっても、異なるものであってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0150】

【図1】第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図である。

【図2】第1実施形態に用いるインサート材の拡大断面斜視図である。

【図3】核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)はインサート材設置時、(b)は型閉じ時の状態をそれぞれ示している。

【図4】核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)は樹脂注入時、(b)は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【図5】図4(b)のA部を拡大して示した断面図であり、(a)は型閉じ時、(b)は型閉じ完了時、(c)は樹脂注入時、(d)は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【図6】第1実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【図7】第2実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ群の斜視図である。

【図8】本発明の第3実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図である。

【図 9】本発明の第 3 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【図 10】本発明の第 3 実施形態に用いられるキャップの拡大断面斜視図である。

【図 11】図 10 の X-X 線断面図である。

【図 12】図 9 の B 部における拡大図である。

【図 13】本発明の第 3 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの洗浄工程を示す断面図である。

【図 14】本発明の第 4 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図である。

【図 15】本発明の第 4 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【図 16】本発明の第 4 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジのキャップの拡大断面図である。

【図 17】本発明の第 5 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジのキャップの拡大断面図である。

【図 18】本発明の第 6 実施形態に係る核酸分離精製カートリッジのキャップの拡大断面図である。

【図 19】核酸分離精製ユニットの縦断面図である。

【図 20】加圧により溶液を排出する核酸分離精製カートリッジを示した図である。

【符号の説明】

【0151】

100, 200, 300 核酸分離精製カートリッジ

F 核酸吸着性多孔性膜

110 インサート材

120 底部材

122 ノズル

140, 210, 310 バレル

150 底部側金型

160 バレル側金型

161 コアピン

190 核酸分離精製カートリッジ群

J 樹脂

143a, 211a, 311 第 1 開口

141, 212, 312 バレル本体部

142 バレル側融着部

213, 313 バレル側嵌合部

214, 315 開口縁部

220, 320 キャップ

221b, 321 第 2 開口

222, 325 キャップ側嵌合部

226c 頂部

224, 302 排出部

126, 226, 326 リブ

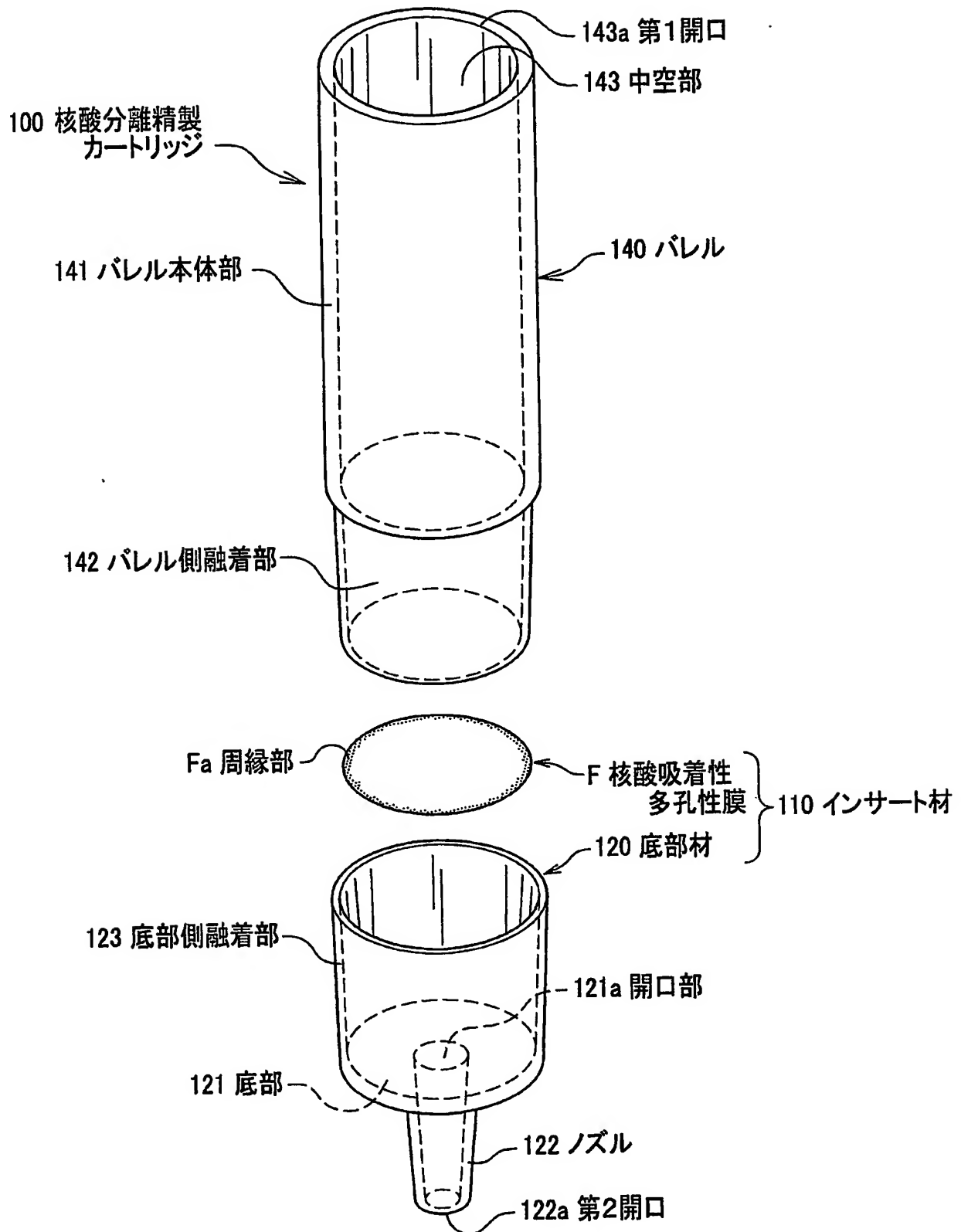
302a 外壁面

302b 内壁面

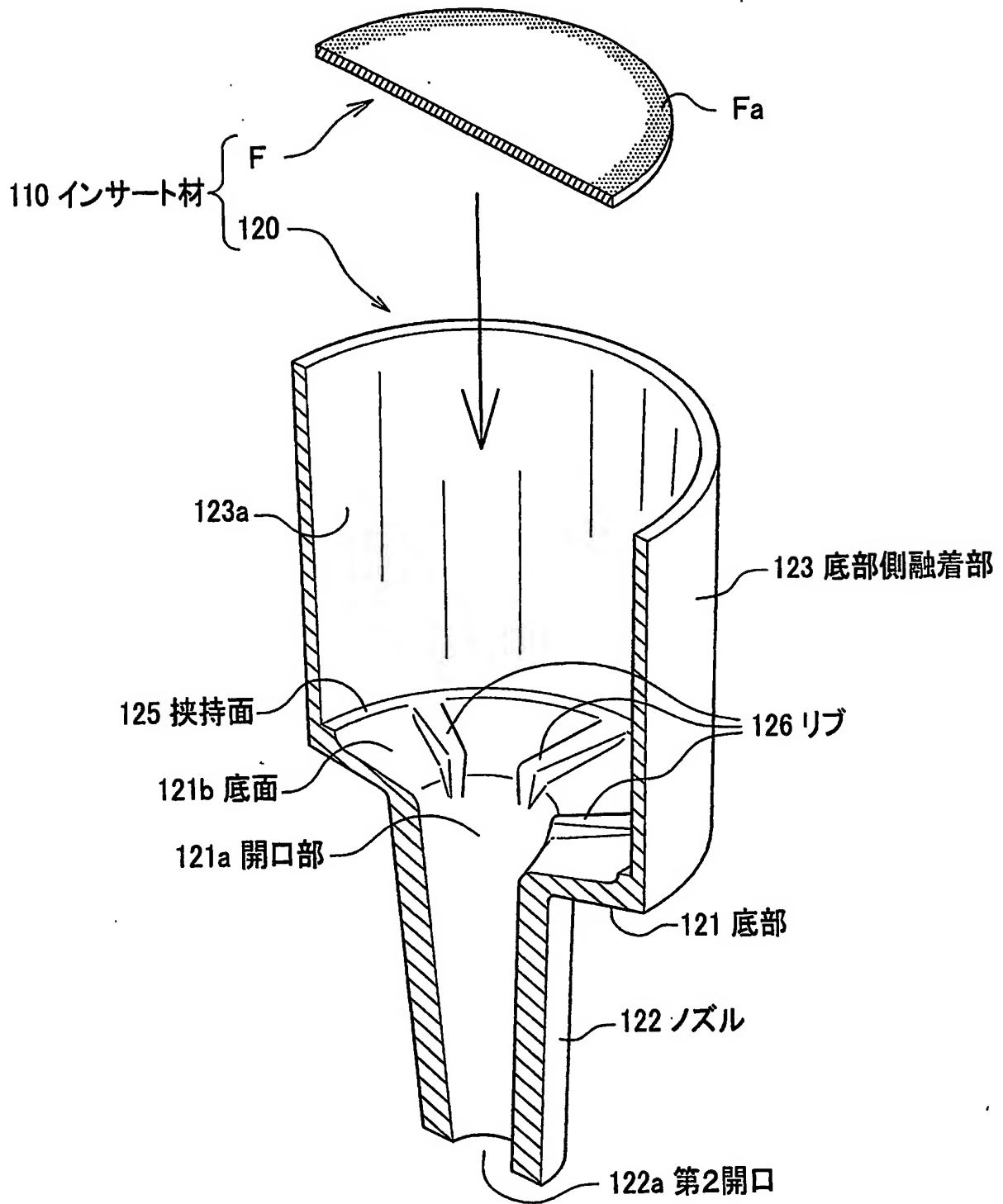
324 端面

【書類名】 図面

【図 1】

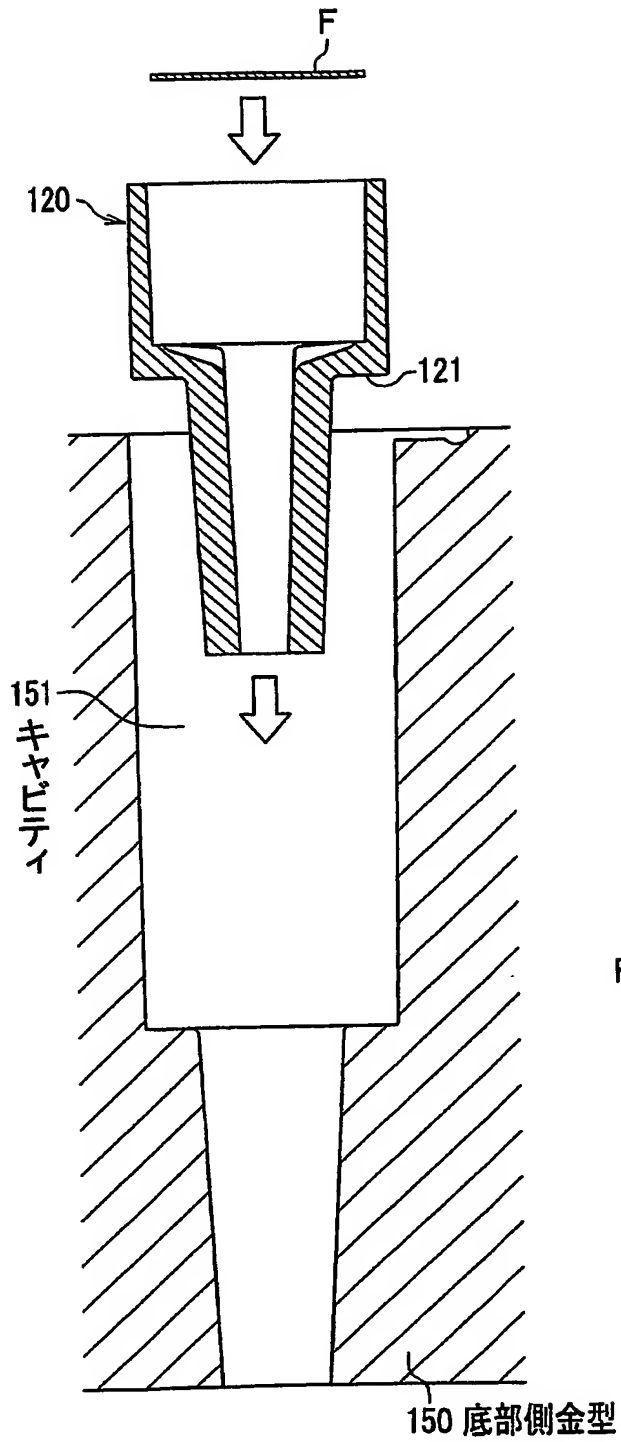


【図 2】

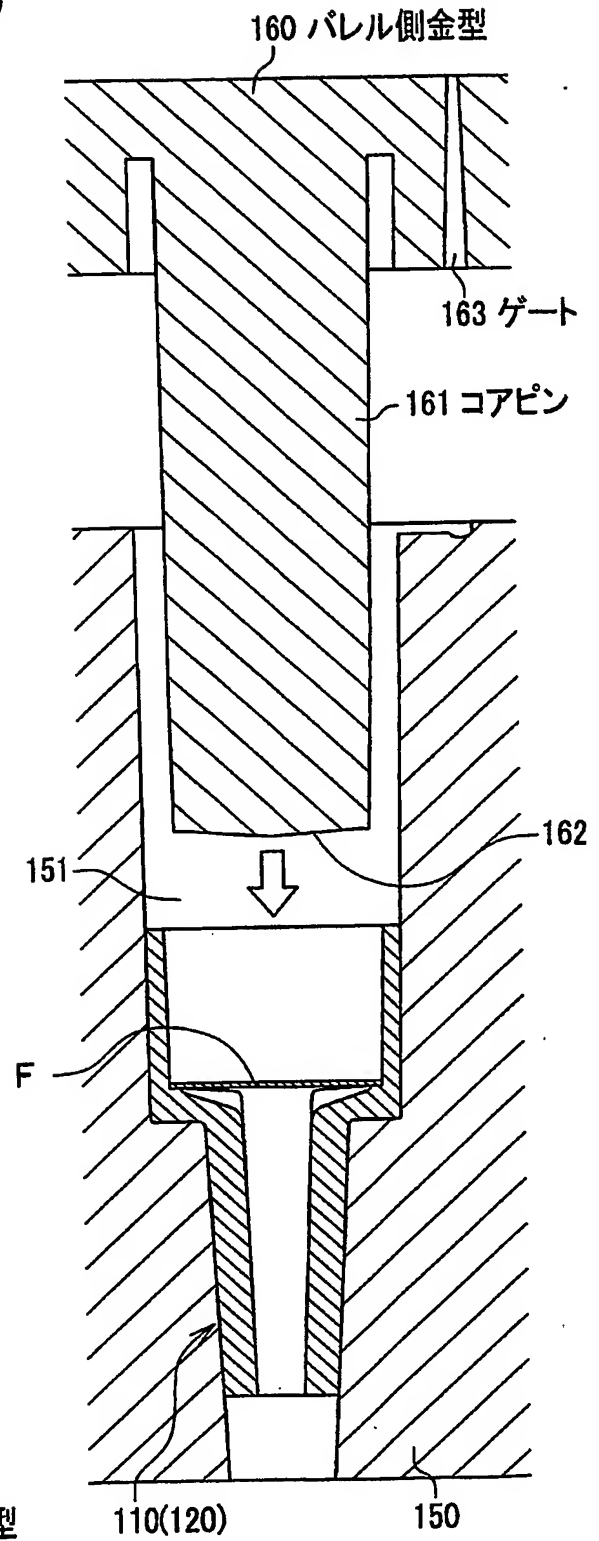


【図 3】

(a)



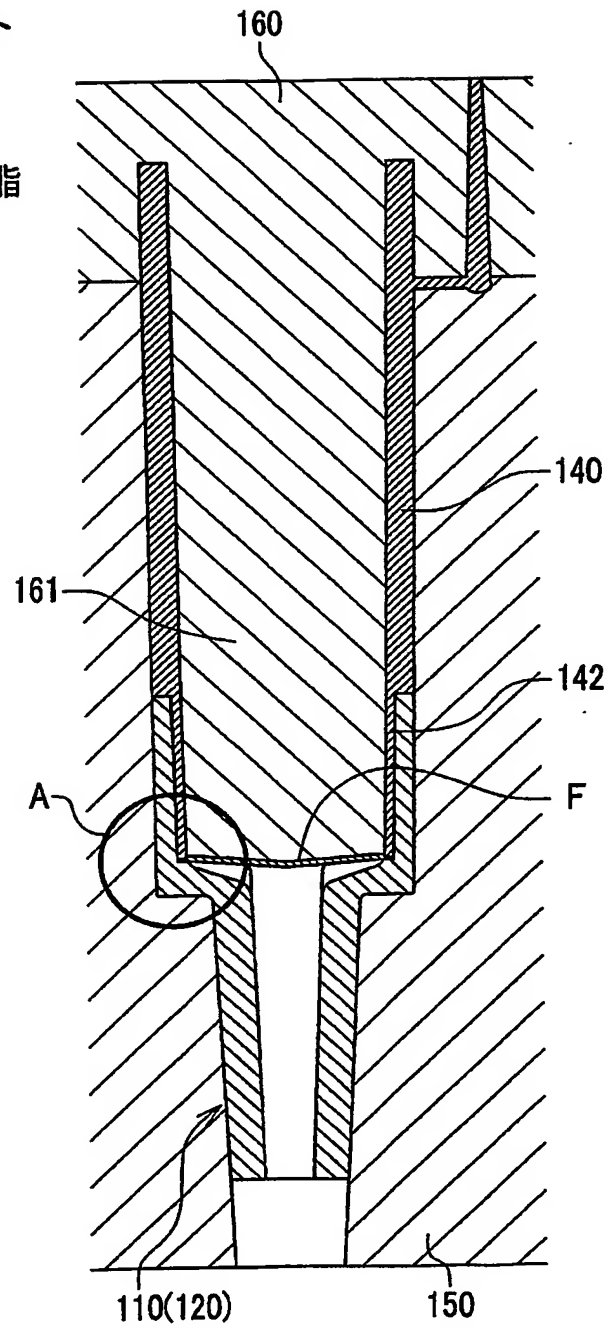
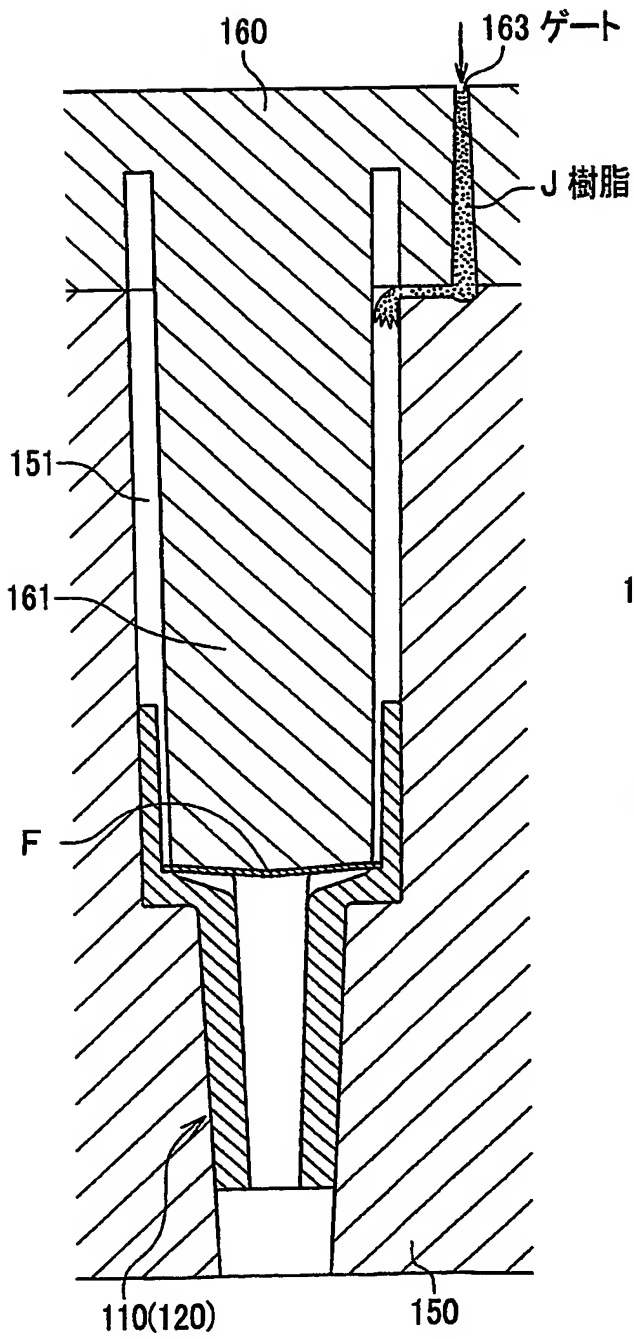
(b)



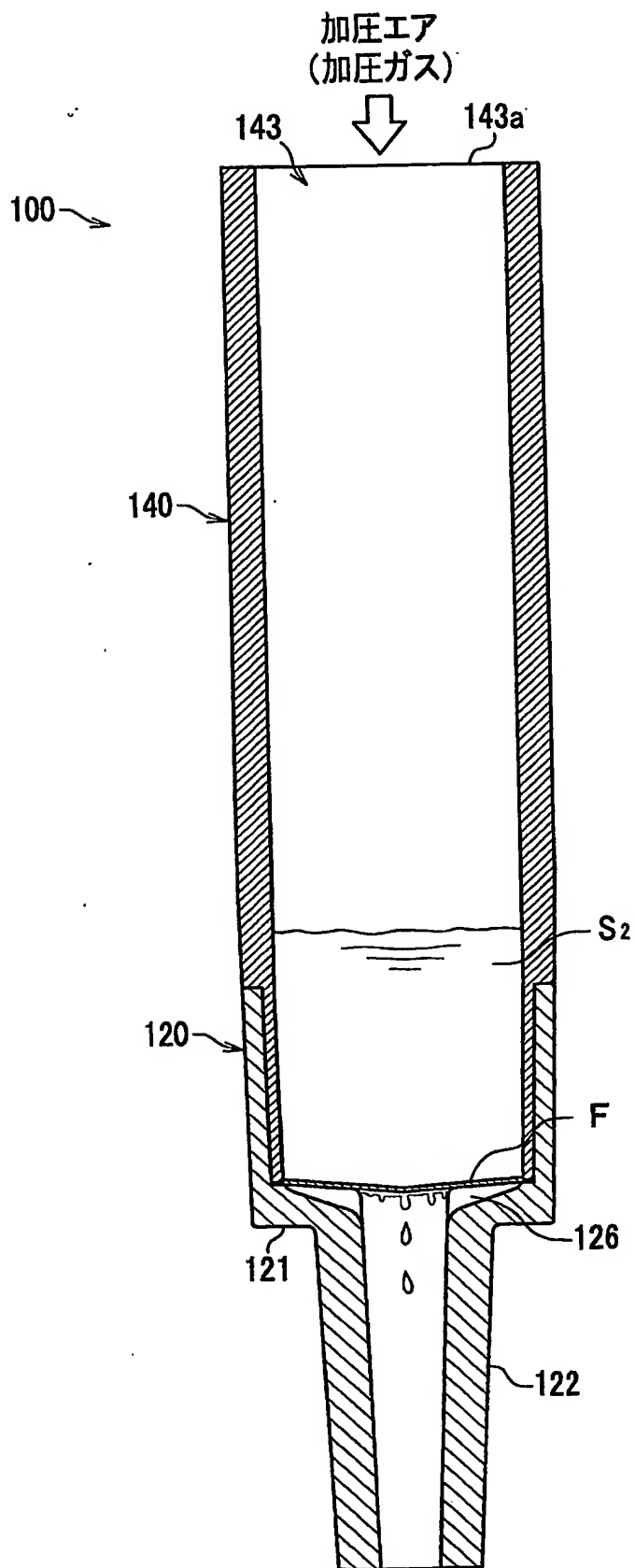
【図 4】

(a)

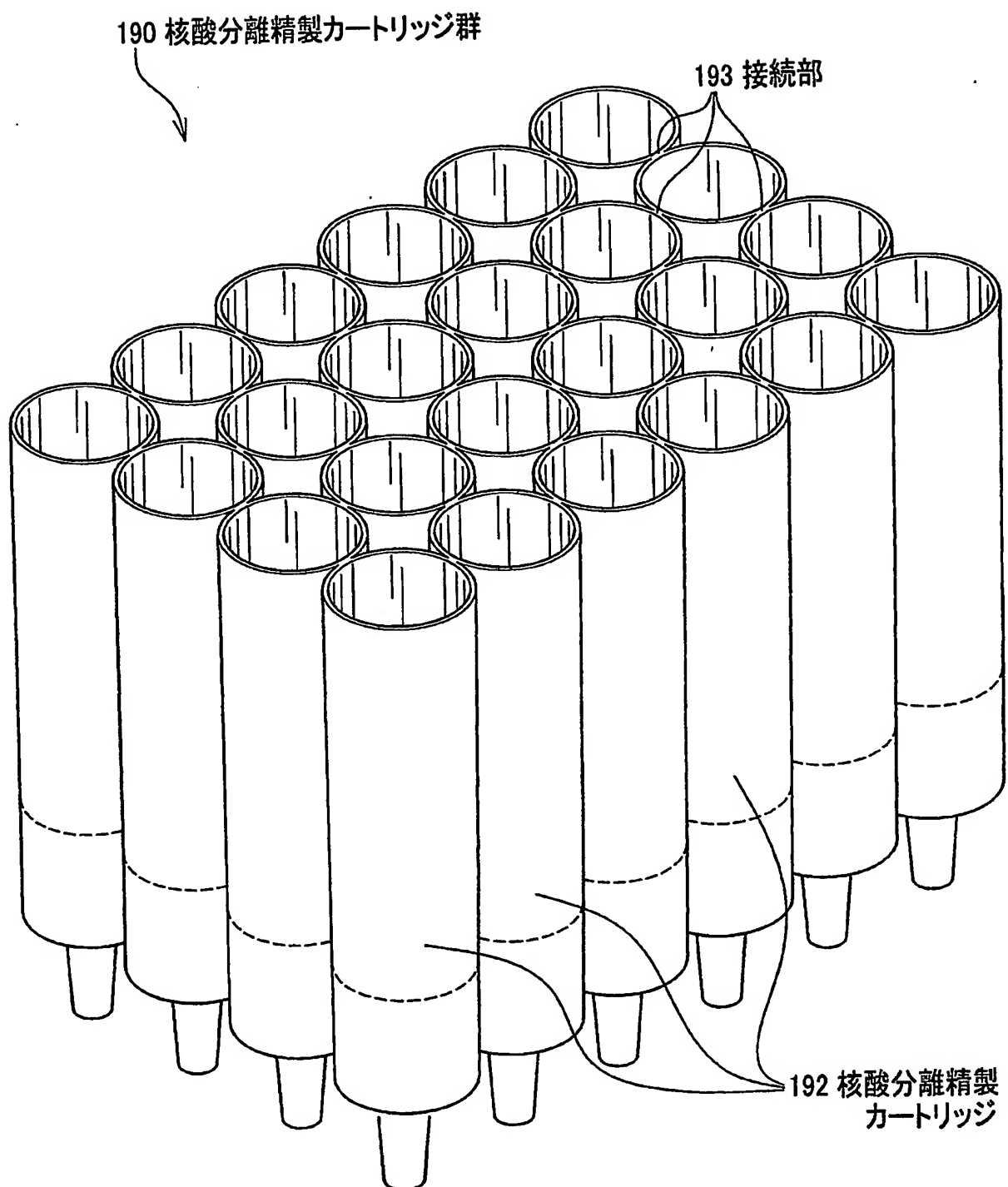
(b)



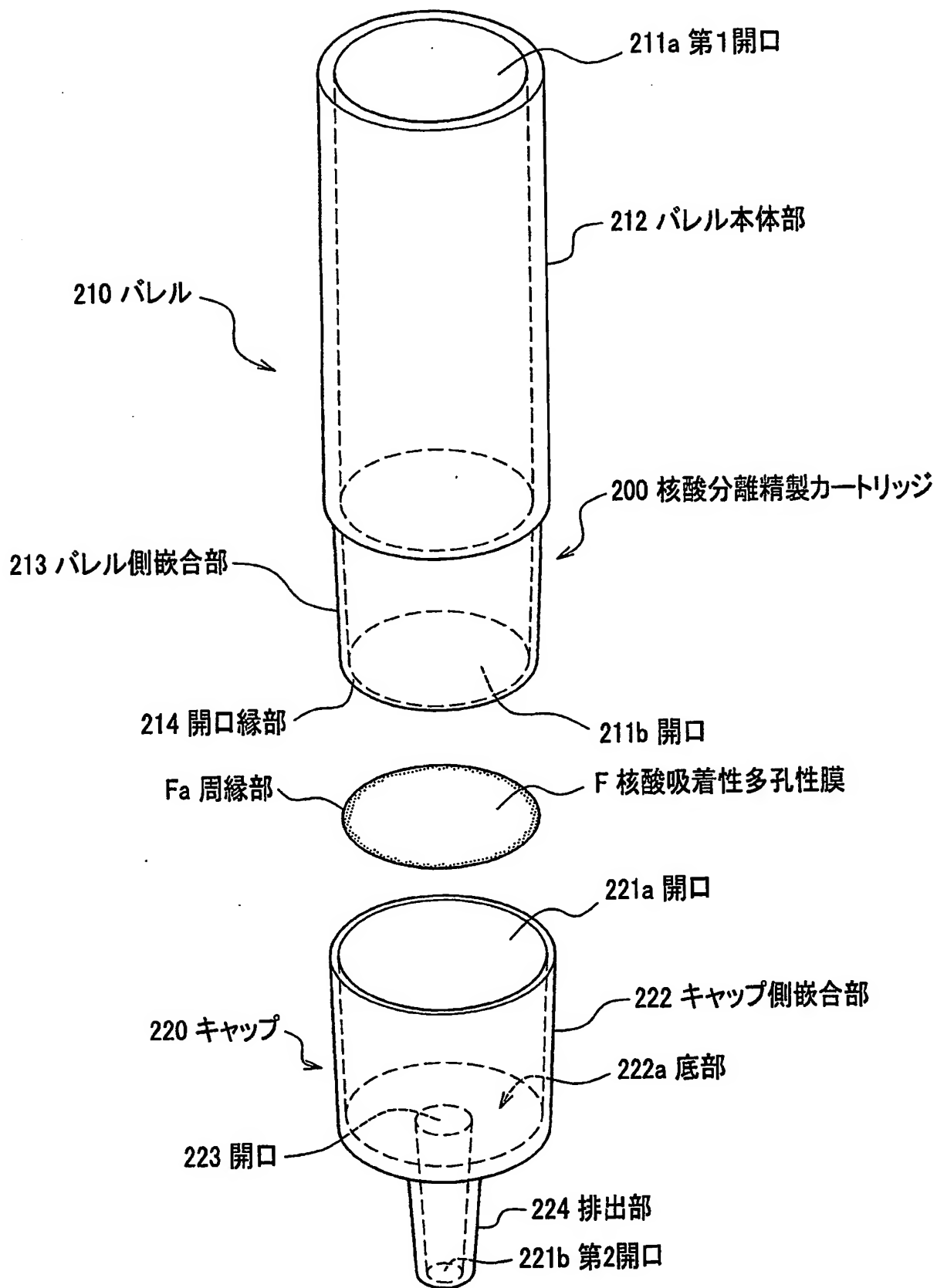
【図 6】



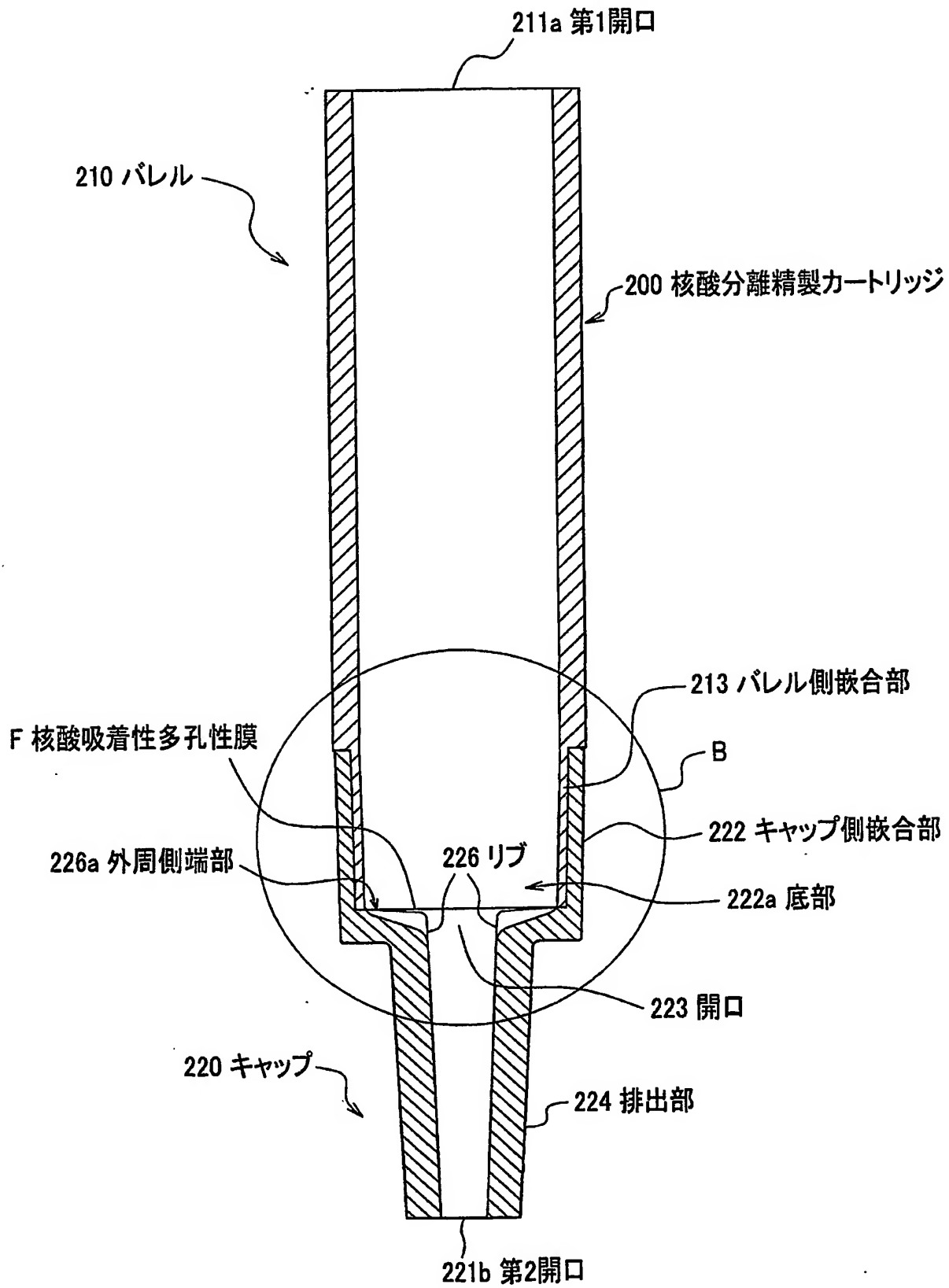
【図 7】



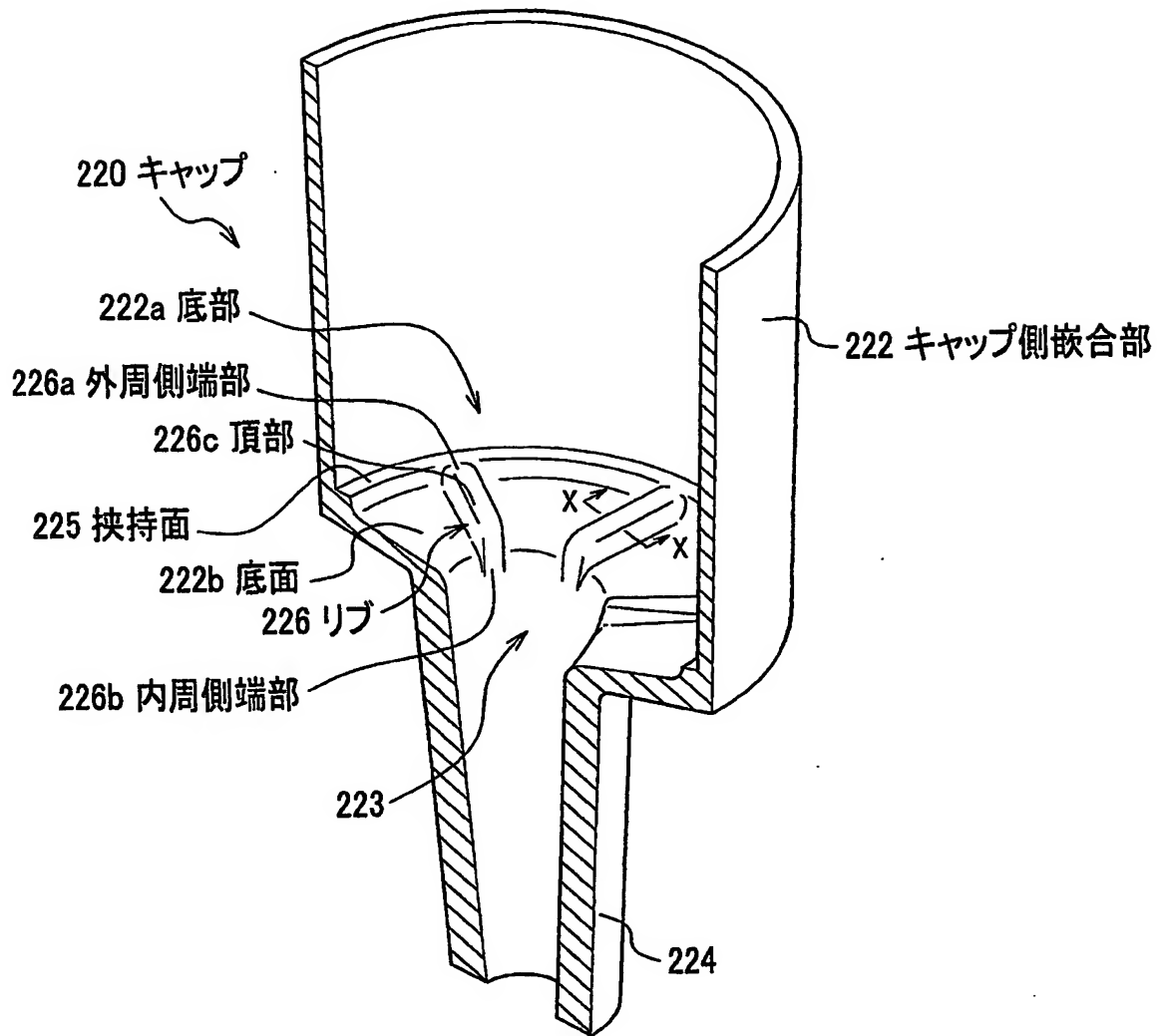
【図 8】



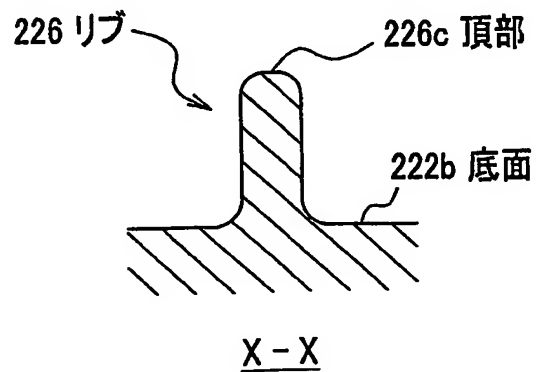
【図 9】



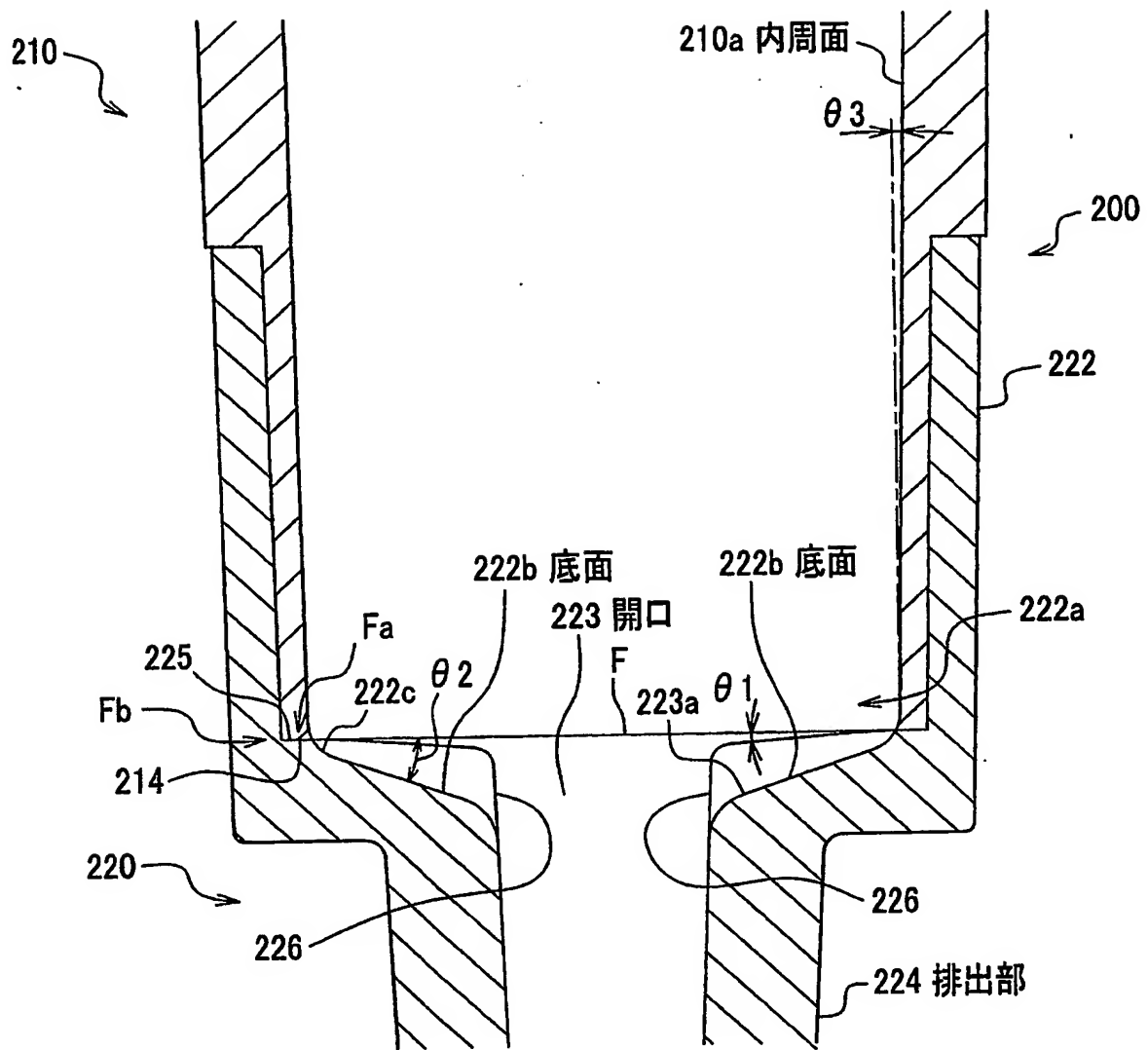
【図 10】



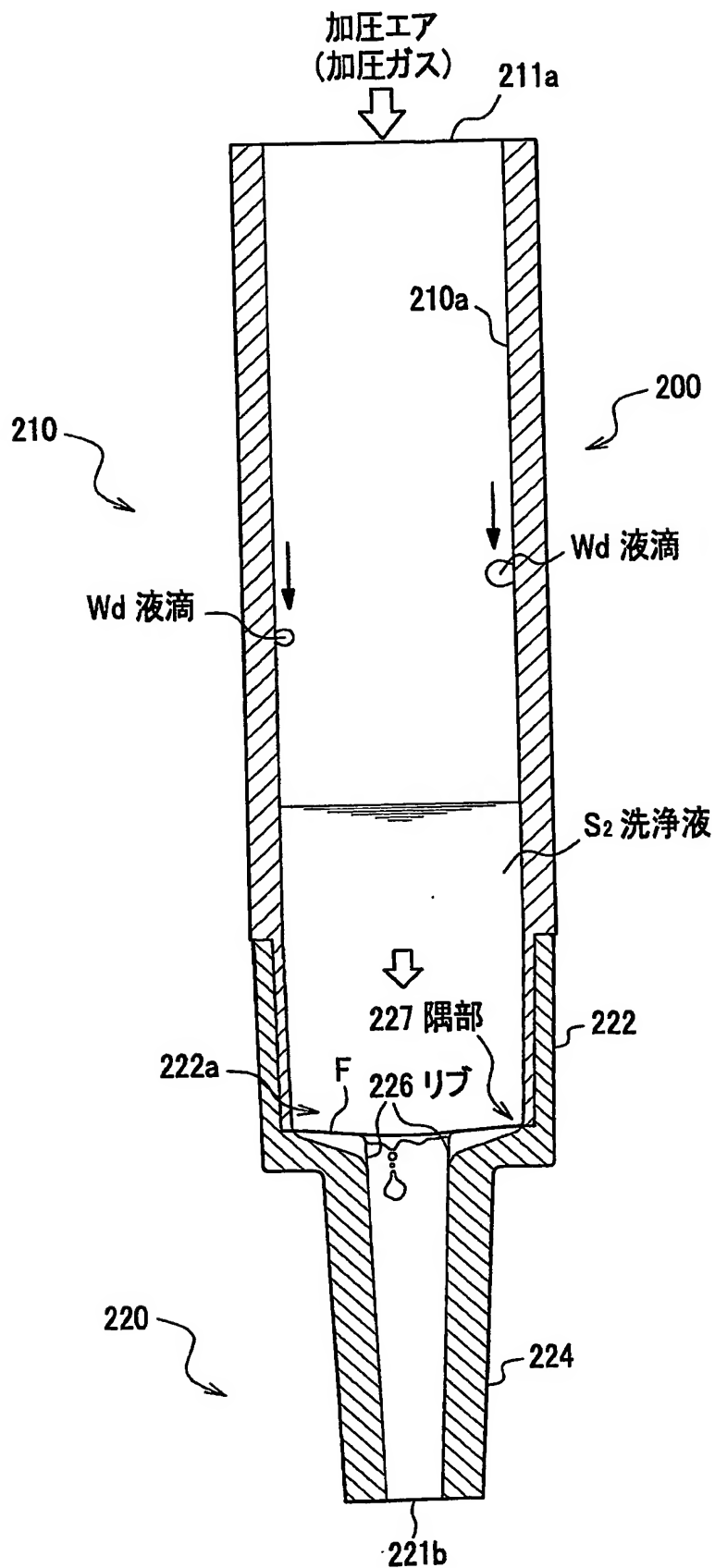
【図 11】



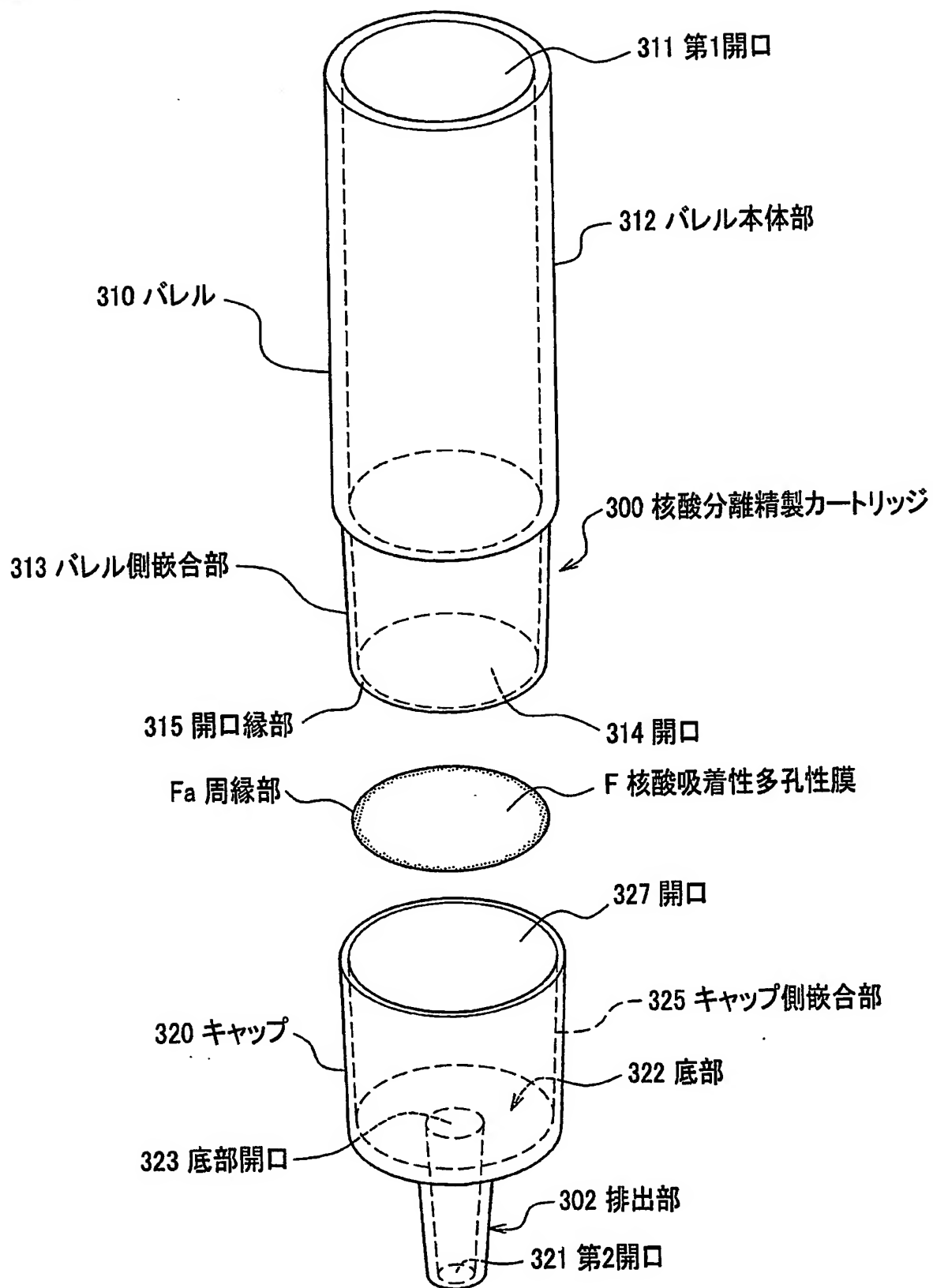
【图 12】



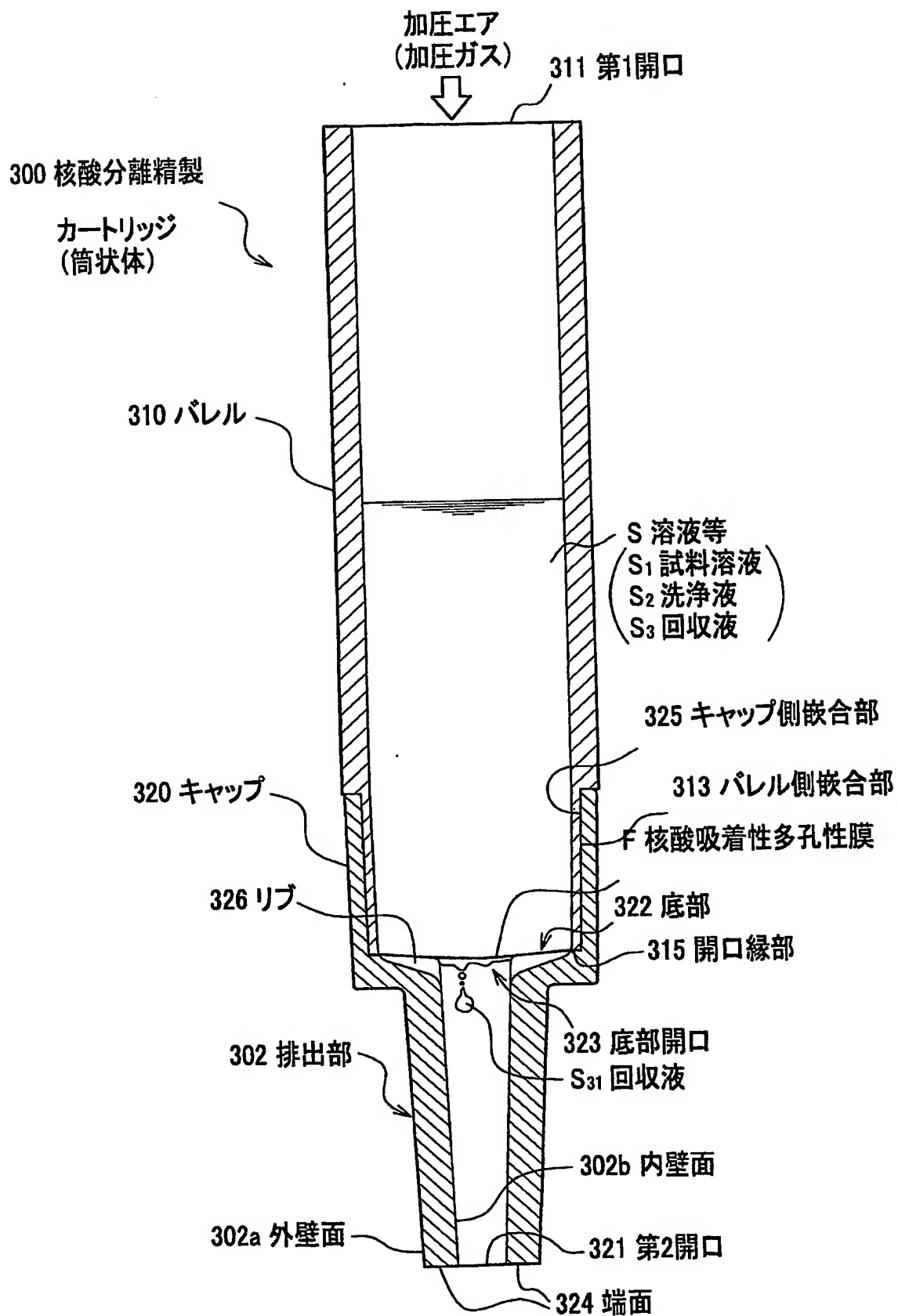
【図 13】



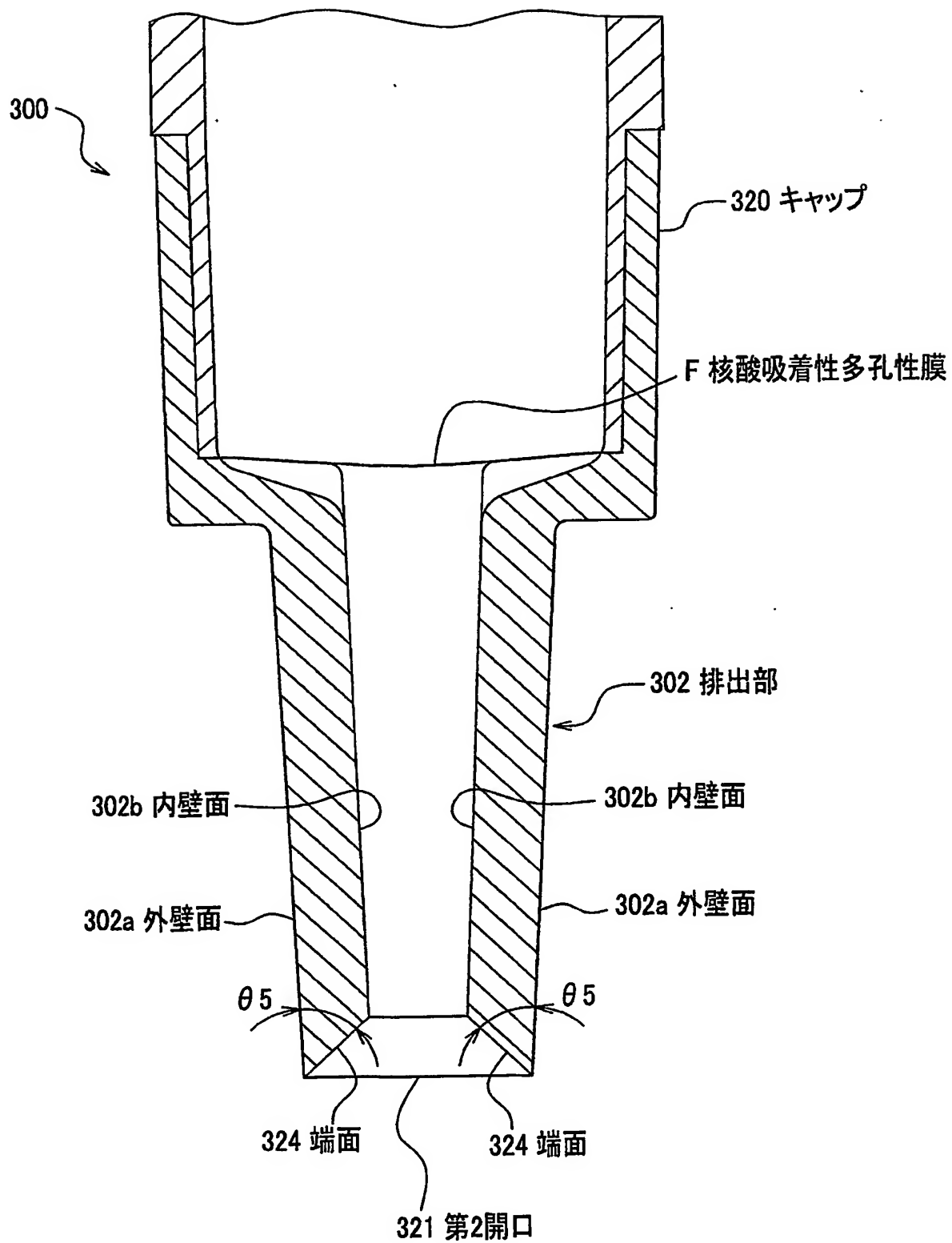
【図 14】



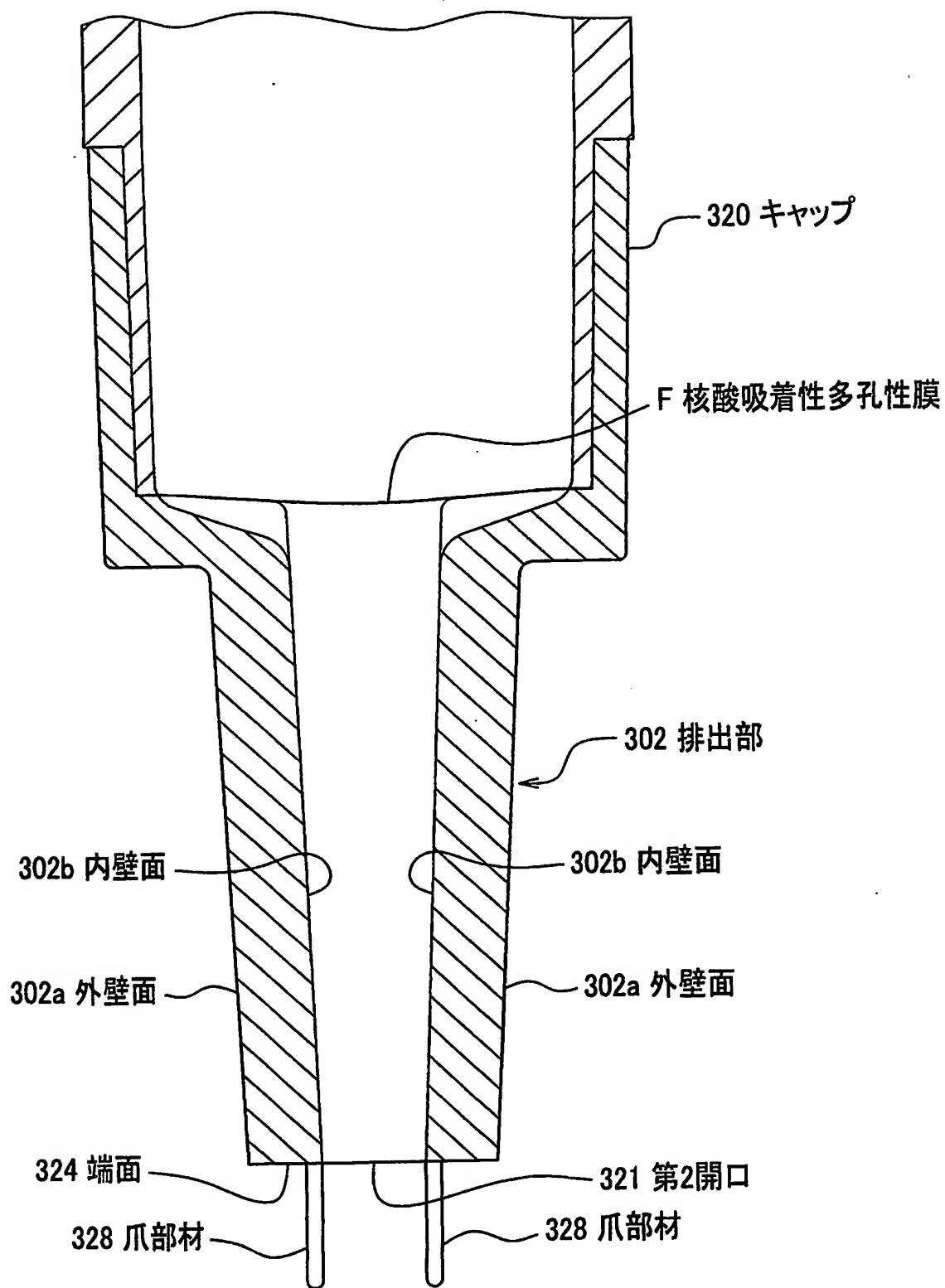
【図 15】



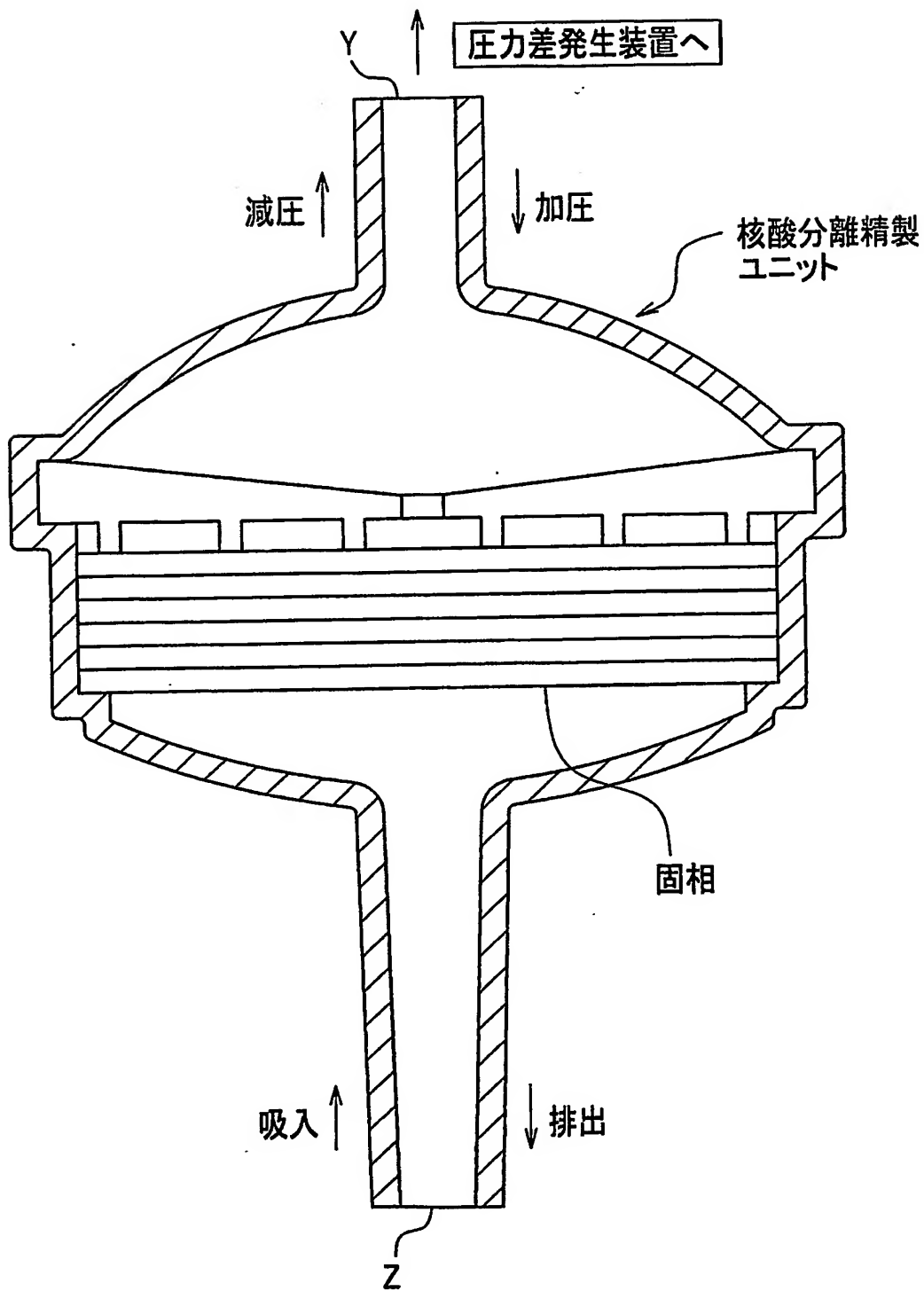
【図 17】



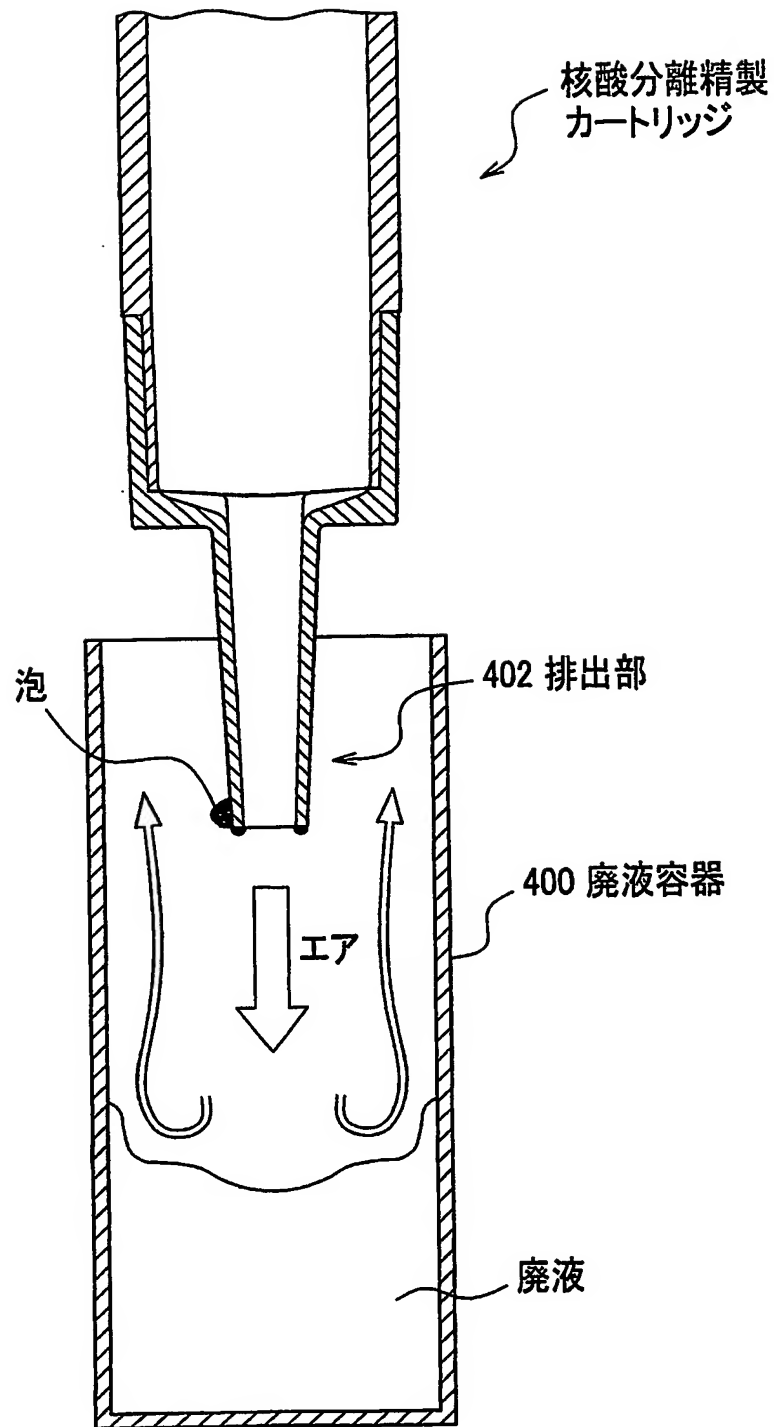
【図 18】



【図 19】



【図 20】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 容器を固着するための専用設備が不要であり、多数個を同時に製造することができる核酸分離精製カートリッジおよびその製造方法を提供する。

【解決手段】 底部材 120 と核酸吸着性多孔性膜 F とからなるインサート材 110 と、このインサート材 110 に対してインサート射出成形されるバレル 140 とから核酸分離精製カートリッジ 100 を構成する。

【選択図】 図 4

認定・付加情報

| | |
|---------|----------------|
| 特許出願の番号 | 特願 2004-051811 |
| 受付番号 | 50400314546 |
| 書類名 | 特許願 |
| 担当官 | 第四担当上席 0093 |
| 作成日 | 平成16年 3月 2日 |

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【住所又は居所】 神奈川県南足柄市中沼210番地

【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】 申請人

【識別番号】 100064414

【住所又は居所】 東京都千代田区平河町2丁目7番4号 砂防会館

別館内 磯野国際特許商標事務所

【氏名又は名称】 磯野 道造

特願 2004-051811

出願人履歴情報

識別番号

[000005201]

1. 変更新年月日

1990年 8月14日

[変更理由]

新規登録

住所

神奈川県南足柄市中沼210番地

氏名

富士写真フイルム株式会社